

**Zur Erfassung und Beurteilung
von Zusätzen
an Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen
zu Fleischerzeugnissen**

Erwin Schneider

1972

Aus dem Lehrstuhl für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr.Dr.h.c. L. K o t t e r

Zur Erfassung und Beurteilung von Zusätzen
an Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen
zu Fleischerzeugnissen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung
der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Erwin Schneider
aus
Matzenweiler

München 1972



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. Boessneck

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. L. Kotter

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. D. Giesecke

Tag der Promotion: 11. 2. 1972

IN DANKBARKEIT MEINEN ELTERN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553803_0090

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Literatur</u>	2
2.1. N-haltige Inhaltsstoffe des Muskelfleisches	2
2.1.1. Proteine	2
2.1.2. N-haltige Nichteiweißstoffe	2
2.2. <u>Analytik der N-Substanzen</u>	8
2.2.1. Stickstoff als Bezugswert	8
2.2.1.1. Gesamt-N	9
2.2.1.2. Rest-N	10
2.2.2. ONF	11
2.3. <u>Stabilität der N-Substanzen</u>	11
2.3.1. Proteolytische Vorgänge während der Fleisch- reifung	11
2.3.2. N-Veränderungen durch Erhitzung	13
2.4. <u>Nährwert der N-haltigen Inhaltsstoffe</u>	15
2.4.1. Kalorischer Nutzwert	15
2.4.2. Biologische Wertigkeit	15
2.4.3. Spezifisch-dynamische Wirkung von Eiweiß	16
2.5. <u>Beurteilung von Fleischerzeugnissen nach dem Eiweißgehalt</u>	16
2.5.1. Bestimmung über den Gesamt-N-Gehalt	16
2.5.2. Bestimmung über ONF	17
2.5.4. Gesamt-N und Rest-N in Fleisch und Fleisch- erzeugnissen	20

2.6.	<u>Erhöhung des Gesamt-N-Gehaltes durch Fremdeiweiß und Nichteiweiß-Stickstoff- substanzen</u>	21
2.6.1.	Fremdeiweiß tierischer Herkunft	21
2.6.2.	Fremdeiweiß pflanzlicher Herkunft	21
2.6.3.	Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen	22
3.	<u>Eigene Untersuchungen</u>	24
3.1.	Problemstellung	24
3.2.	Allgemeiner Versuchsablauf und Material	25
3.2.1.	Methodik der Gesamt-N-Bestimmung	26
3.2.2.	Methodik der Rest-N-Bestimmung	26
3.2.3.	Methodik des Harnstoffnachweises	26
3.2.4.	Chemische Zusammensetzung der Zusätze	28
3.3.	<u>Versuchsdurchführung und Ergebnisse</u>	30
3.3.1.	Modellbrühwürste	30
3.3.1.1.	Versuchsreihe I	30
3.3.1.2.	Ergebnisse	31
3.3.1.3.	Versuchsreihe II	34
3.3.1.4.	Ergebnisse	35
3.3.1.5.	Versuchsreihe III	38
3.3.1.6.	Ergebnisse	39
3.3.1.7.	Versuchsreihe IV	42
3.3.1.8.	Ergebnisse	43
3.3.1.9.	Versuchsreihe V	46
3.3.1.10.	Ergebnisse	47
3.3.2.	Brühwürste aus dem Handel	50
3.3.2.1.	Ergebnisse	52
3.3.3.	<u>Diskussion und Ergebnisse</u>	53
4.	<u>Zusammenfassung</u>	56
5.	<u>Literaturverzeichnis</u>	57

1. Einleitung

Der Gütebeurteilung von Fleischerzeugnissen wird u.a. der Rohproteinwert ($N \times 6,25$) zugrunde gelegt, da er zum Eiweißgehalt in einem gewerbeüblichen Erzeugnis in direkter Beziehung steht. Durch Zusatz von nicht-eiweißartigen Stoffen wird der Rohproteinwert nicht jedoch der Eiweißgehalt erhöht. Bei derartigen Erzeugnissen liefert das Rohprotein als Kriterium des Eiweißgehaltes daher eine falsche Beurteilungsgrundlage. Der Zusatz nichtproteinartiger Substanzen stellt eine Verfälschung dar, da durch den höheren Rohproteinwert ein höherer Eiweißgehalt vorgetäuscht wird. Die Feststellung derartiger Verfälschungen wurde bisher vernachlässigt.

In Zukunft soll nach den Leitsätzen des Deutschen Lebensmittelbuches für Fleisch und Fleischerzeugnisse ausschließlich der Gehalt an bindegewebs- und fremdeiweißfreiem "Fleischeiweiß" qualitätsbestimmend sein. Da "Fleischeiweiß" aus dem Stickstoff- bzw. Rohproteingehalt berechnet wird, ist bei der Beurteilung nach diesem Merkmal auch der verfälschende Zusatz von Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen auszuschließen.

In der vorliegenden Arbeit sollten Möglichkeiten der analytischen Erfassung N-haltiger, nichteiweißartiger Zusätze zu Fleischerzeugnissen untersucht werden.

2. Literatur

2.1. N-haltige Inhaltsstoffe des Muskelfleisches

2.1.1. Proteine

Der Skelettmuskel eines ausgewachsenen Säugetieres besteht nach L a w r i e (70) aus annähernd 75 % Wasser, 18 % Proteinen, 3,5 % proteinfreien Substanzen und 3 % Fett.

Nach ihrem unterschiedlichen Lösungsverhalten können die Muskelproteine in wasserlösliche, wasserunlösliche und salzunlösliche eingeteilt werden (110, 118, 119).

Zu den wasserlöslichen Muskelproteinen zählen das Myogen, Myoalbumin, Myoglobin und das Actin (2, 4, 70, 114).

Zu den wasserunlöslichen Proteinen gehören das Myosin, Globulin X und das Tropomyosin (1, 80, 102).

Das Stroma, das sich aus den Skleroproteinen Kollagen, Elastin und Retikulin zusammensetzt, sowie die Mitochondrien und das Cytochrom C gehören zu den salzunlöslichen Muskelproteinen (36, 74).

Der Anteil der einzelnen Muskelproteine am Gesamtprotein beträgt ca. 20 % Myogen, 20 % Globulin X, 40 % fibrilläre Muskeleiweißkörper, 0,6 % Myoglobin und 20 % Stroma (82, 119).

2.1.2. N-haltige Nichteiweißstoffe

Das Muskelfleisch enthält eine ganze Reihe N-haltige Stoffe, die keine Proteine sind. Ihr Stickstoffanteil am Gesamt-N des Skelettmuskels liegt bei ca. 8,6 bis 12 % (25, 70, 71).

Zu diesen N-haltigen Nichteiweißstoffen gehören Aminosäuren, Dipeptide einschließlich der höheren Peptide,

Kreatin, Kreatinin, Phosphagen, Amine, Purin- und Pyrimidinbasen sowie deren Verbindungen, wie Nucleoside, Nucleotide und deren Abbauprodukte Hypoxanthin (Sarkin), Carnin und Harnsäure; außerdem Harnstoff und Ammoniak (20, 37, 69).

Frisches Fleisch enthält bemerkenswerte Mengen an freien Aminosäuren (33, 34, 77). In Rindfleisch sind nach G r a u (36) verhältnismäßig hohe Konzentrationen an Asparaginsäure, Glycin, Alanin, Glutaminsäure, Glutamin und Serin zu finden. Folgende Tabelle (79) gibt eine Übersicht über das Vorkommen von freien Aminosäuren im Rindermuskel:

	<u>g/16 g N</u>
Alanin	4,0
Arginin	7,7
Asparaginsäure	6,0
Cystin	1,3
Glutaminsäure	15,4
Glycin	5,0
Histidin	2,9
Hydroxyprolin	in Spuren
Isoleucin	6,3
Leucin	7,7
Lysin	8,1
Methionin	3,3
Phenylalanin	4,9
Prolin	6,0
Serin	5,4
Threonin	4,6
Tryptophan	1,3
Valin	5,8

Schweinemuskulatur weist dagegen eine etwas andere Zusammensetzung der freien Aminosäuren auf. Alanin ist sehr stark vertreten. Es folgen Glutaminsäure, Serin

und Glycin, während Asparaginsäure, Arginin, Leucin, Lysin in mittlerer Konzentration, Valin, Methionin, Tyrosin, Isoleucin, Prolin und Phenylalanin nur in geringen Mengen vorhanden sind. Histidin, Tryptophan und Cystin sind in Spuren vorhanden (36). Ähnliche Werte wurden von F a u t z (22) gefunden.

Der Anteil der Aminosäuren an der Nicht-Protein-Stickstoff-Substanz (NPN) beträgt ca. 22 % (70).

Die wichtigsten Dipeptide im Muskel sind Carnosin (β -Alanyl-L-histidin) und Anserin (β -Alanyl-L-1-methylhistidin) (5, 37, 55). In der quergestreiften Muskulatur sind beide vorhanden, während in Organen, in Herzmuskel sowie glatter Muskulatur Carnosin nicht oder nur in geringen Konzentrationen zu finden ist (20, 36).

G r a u (36) ermittelte in 100 g Skelettmuskulatur bis zu 460 mg Carnosin und bis zu 500 mg Anserin.

Die biologische Bedeutung von Carnosin und Anserin ist noch weitgehend ungeklärt. Nach B a t e - S m i t h (5) wird ihnen eine Pufferfunktion im tierischen Gewebe zugeschrieben. Von Carnosinphosphat wird angenommen, daß es als Phosphatdonator wirkt (15).

Carnosin und Anserin sind mit ca. 20 % an der NPN-Substanz beteiligt (70).

Ähnliche im Fleisch vorkommende N-haltige Verbindungen sind Ignotin (ein mit Carnosin isomeres Peptid), Carnomuscarin, Neosin, Novain (identisch mit Carnitin) und Oblitin (36).

Zu den höheren Peptiden gehört das Glutathion, ein Tripeptid aus Glutaminsäure, Cystein und Glykokoll (37, 54). Sein Gehalt im Skelettmuskel beträgt ca. 50 mg %, im Herzmuskel und glatten Muskel ca. 100 - 300 mg % (25). Die biochemische Funktion ist äußerst vielfältig. Es spielt eine bedeutende Rolle bei zahlreichen Redoxvorgängen im Organismus und ist Baustein vieler Enzyme (54). Im Muskelgewebe kommen noch einige N-haltige Hormone in Spuren vor (37).

Nach L a n g (69) wird die Base Carnitin (L- γ -Amino- β -hydroxybutyrobetain) in jedem tierischen Gewebe gefunden. Der Muskel ist besonders reich an L-Carnitin, wobei je nach Spezies 0,02 - 0,36 % vorkommen. Für Rindermuskel gibt G a r k a w i (28) einen Carnitingehalt von 260 mg in 100 g Gewebetrockengewicht an. Carnitin wird als Wuchsstoff für Insekten, Vögel, Säugetiere und den Menschen angesehen (3). Das Acyl-Carnitin ist eine intrazelluläre Transportform der Fettsäuren. Als Acylcarrier kann es die extramitochondrialen Acyl-CoA in die Mitochondrien transportieren (55, 69).

Kreatin und Kreatinin sind zwei wichtige N-Verbindungen des Muskelfleisches (37). Das Kreatin (Methylguanodinoessigsäure) wird im Körper aus Arginin, Glycin und Methionin synthetisiert. Kreatinin (Anhydrid des Kreatins) ist das Abbauprodukt des Kreatins und wird als Stoffwechselprodukt im Harn ausgeschieden (25, 69). Der Gehalt an Kreatin in schierem Fleisch ist verhältnismäßig konstant (52). Etwa 80 % des gesamten Muskelkreatins liegen als Kreatinphosphorsäure vor, der Rest als freies Kreatin (20). Kreatinphosphat ist gleichbedeutend mit Phosphagen und stellt eine Energiereserve dar, die jederzeit schnellstens in Anspruch genommen werden kann, um den "ATP-Pool" zu regenerieren (20, 37).

D a h l (15) fand in fettarmer Skelettmuskulatur von Rind und Schwein Kreatin/Kreatinin-Werte von durchschnittlich 2,42 bzw. 2,56 % bezogen auf Gesamteiweiß. In Schwarten und Bindegewebe ermittelte er 0,1 %, in Leber, Nieren, Lungen und Milz etwa 0,2 % und in Herz und Zunge ca. 1,5 bis 2 %. Nach M ü l l e r (85) beträgt die absolute Menge an Kreatin in rohem Rindfleisch ca. 0,3 %. Kreatin ist mit ca. 36 % an der NPN-Substanz beteiligt (70).

Die Amine entstehen im Organismus durch Decarboxylierung von Aminosäuren. Diese niedermolekularen organischen Basen werden "biogene Amine" genannt, weil viele pharmakologische Wirkungen haben und andere Vorstufen

von Hormonen sind (40, 75, 93). G o n t z e a (32) zählt die "biogenen Amine" zu den sog. natürlichen "antinutritiven" Bestandteilen von Lebensmitteln. Schweinefleisch und Rindfleisch enthalten geringe Mengen Amine, wie Histamin, Putrescin, Cadaverin, Tyramin, Tryptamin, Äthanolamin und Agmatin (86).

N i e w i a r o w i c z (86) stellte innerhalb einer 18-tägigen Lagerzeit von Rindfleisch bei 3,5° C einen stetigen Anstieg von Histamin, Putrescin und Cadaverin fest, während Tryptamin und Colamin abnahmen. So wurde bei Rindfleisch nach 18-tägiger Lagerzeit ein Colamingehalt von 20 - 33 µg/g und ein Putrescingehalt von 3,4 - 3,8 µg/g festgestellt. Tryptamin und Histamin waren in Mengen von 3,0 - 4,0 µg/g bzw. 1,4 - 1,6 µg/g vorhanden. In Schweinefleisch betrug die Endkonzentration nach 18 Tagen Lagerung für Cadaverin 1,2 - 1,6 µg/g, für Colamin 50 - 70 µg/g und für Tryptamin 2,4 - 3,4 µg/g. Die während dieser Lagerzeit entstandenen Amine wirken nicht toxisch.

Nach T ä u f e l (113) ist bei biophysikalischen, chemischen, biochemischen und mikrobiologischen Prozessen in eiweißhaltigen Lebensmitteln mit der Bildung von "biogenen Aminen" zu rechnen. Im intermediären Stoffwechsel kann ein Mangel an biogenen Aminen nur bei einem Unterangebot an entsprechenden alimentären Ausgangsaminosäuren auftreten.

Purin- bzw. Pyrimidinbasen sind keine essentiellen Nahrungsbestandteile. Die wichtigsten Purinbasen sind Adenin (6-Amino-purin), Guanin (2-Amino-6-hydroxy-purin) und Hypoxanthin (6-Hydroxy-purin) (53). Zu den wichtigsten Pyrimidinbasen zählen Uracil (2,6-Dihydroxy-5-methyl-pyrimidin) und Thymin (2,6-Dihydroxy-pyrimidin) (25, 55, 101). Die Verbindungen von Purin- oder Pyrimidinbasen mit Ribose oder 2-Desoxyribose werden als Nucleoside bezeichnet (55, 101). Bei den Nucleotiden ist noch Phosphorsäure durch eine esterartige Bindung an Ribose oder Desoxyribose in das Molekül eingebaut (55).

Die Inosinsäure, das Nucleotid des Hypoxanthins, kommt als freies Nucleotid im Muskel vor und ist an der Aromabildung des Fleisches beteiligt (37, 113). Die Skelettmuskulatur enthält etwa 600 - 800 μ Mol Adenosinnucleotide pro 100 g Frischgewicht. Adenosinsäure wird postmortal rasch zu Inosinsäure desaminiert, so daß die Konzentration im Fleisch annähernd 200 mg % Inosin-5'-phosphat beträgt (69).

Inosin-Monophosphat ist mit ca. 20 % am NPN beteiligt (70).

Die Mononucleotide AMP (Adenosinmonophosphat), ADP (Adenosindiphosphat) und ATP (Adenosintriphosphat) haben im intermediären Stoffwechsel und bei der Muskelfunktion große Bedeutung (43, 44, 55). Die günstigen technologischen Eigenschaften von schlachtwarmem Fleisch werden auf die Anwesenheit von ATP zurückgeführt (43, 44, 62). Der frische Muskel enthält fast ausschließlich ATP in einer Konzentration von ca. 120 - 220 mg % (43, 69).

Di- und Triphosphopyridinnucleotide haben einen Anteil am NPN von ca. 4 % (70).

Die Nucleinsäuren sind hochmolekulare Polynucleotide (55). Man unterscheidet zwischen Ribonucleinsäuren (RNS) und Desoxyribonucleinsäuren (DNS), die Bestandteile aller Zellen sind (55).

Nach G r a u (37) werden im Muskelfleisch ca. 0,1 bis 0,25 % Purinderivate gefunden. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Hypoxanthin (0,03 %), Harnsäure und Carnin (1.3-Methylharnsäure). Die Harnsäure stellt bei den Primaten das Endprodukt des Purinstoffwechsels dar. Die übrigen Säugetiere spalten die Harnsäure zu Allantoin (69).

Harnstoff ist das wichtigste Endprodukt des N-Stoffwechsels bei Säugetieren und wird mit dem Harn ausgeschieden (25). Geringe Mengen sind auch in Blut, Leber, Niere und Muskulatur zu finden. Der Muskel hat einen Harnstoffgehalt von ca. 20 - 30 mg %. Für Fischfleisch wird

ein sehr hoher Harnstoffgehalt angegeben, der beim Katzenhai ca. 1,9 % des Muskelfleisches betragen soll (25).

Ammoniak ist ein Stoffwechselprodukt des Aminosäurenabbaus. Schon in niedrigen Konzentrationen wirkt es als Zellgift (55). S c h o r m ü l l e r und A d l e r (100) haben in frischem Rindermuskel 23,4 mg % Ammoniak nachgewiesen. Schweinemuskulatur scheint einen niedrigeren Ammoniakgehalt zu haben, da F a u t z (22) nur 8,2 mg % fand.

2.2. Analytik der N-Substanzen

2.2.1. Stickstoff als Bezugswert

Proteine bestehen aus Peptiden, die wiederum aus Aminosäuren aufgebaut sind (54). Das wichtigste Element dieser Gruppe, das analytisch quantitativ exakt erfaßt werden kann, ist der Stickstoff (38). Der N-Gehalt liegt für viele Eiweißstoffe nahe bei 16 %. Aus dem bekannten Stickstoffgehalt eines Gewebes kann daher die Eiweißmenge mit dem entsprechenden Umrechnungskoeffizienten errechnet werden (6, 20).

Muskeleiweiß hat einen N-Gehalt von 16 % und damit einen Umrechnungsfaktor von $100/16 = 6,25$. Zur Herstellung von Fleischerzeugnissen wird jedoch nicht reines Muskeleiweiß, sondern Fleisch schlechthin mit einem mehr oder weniger hohem Bindegewebsgehalt verwendet. Bindegewebe ist aber geringwertiges Eiweiß, enthält jedoch mehr Stickstoff als Muskeleiweiß und hat daher einen Umrechnungskoeffizienten von 5,55 (20, 35). Die proteinartige Fraktion des Fettgewebes vom Schwein hat einen Stickstoffgehalt von ca. 17,1 %. Das entspricht einem Faktor von 5,85 (73). Bei Fleischstücken mit stärkerer intermuskulärer Fetteinlagerung treten nach L i n k e und A r n e t h (73) deshalb Streuungen beim Rohproteinwert ($N \times 6,25$) auf.

Von den Fremdeiweißen haben aufgeschlossenes Milcheiweiß einen Umrechnungsfaktor von 6,37, Eiweißprotein einen solchen von 6,67 und Sojaprotein von 5,72 (39, 97).

K o t t e r (60) hält den mit dem Faktor 6,25 errechneten Rohproteinwert bei Fleischerzeugnissen nur für bedingt anwendbar, weil der N-Gehalt in kollagener Substanz wesentlich höher und in eventuell vorhandenem Milcheiweiß niedriger ist. Der wirkliche Umrechnungsfaktor ließe sich durch einen Vergleich des Faktors 6,25 mit dem Faktor organisches Nichtfett/Stickstoff (ONF/N) ermitteln.

Aus Gründen der Einfachheit und Einheitlichkeit und um Verwirrungen auszuschalten, sind D a h l (15), H o p p e r (51), L y m a n (76) und S m i t h (105) dagegen für eine Beibehaltung des Faktors 6,25.

Da der Ausdruck Rohprotein bei Fleischerzeugnissen trotz ihres unterschiedlichen Bindegewebsgehaltes unbewußt mit Muskeleiweiß gleichgestellt wird, schlägt G r a u (38) vor, ihn durch Begriffe wie "Gesamt-N-Verbindungen" oder "Gesamt-N-Substanzen" zu ersetzen.

Durch den vermehrten Einsatz von Fremdeiweißen ist die Beurteilung von Fleischerzeugnissen nach dem Rohproteinwert sehr problematisch geworden (36, 38, 97).

2.2.1.1. Gesamt-N

Im Gesamtstickstoff sind Eiweißstickstoff und Nicht-eiweißstickstoff (Reststickstoff) einer Substanz enthalten (20).

Mit der Methode nach Kjeldahl werden alle biologisch wichtigen N-haltigen Substanzen, einschließlich der niedermolekularen N-Verbindungen wie Kreatin, freie Aminosäuren, Nucleotide usw. erfaßt (20, 45, 98).

Zu niedrige Stickstoffwerte können auftreten:

1. durch Entweichen von gasförmigem Stickstoff (bei Verbindungen mit NO_2 -Gruppen (Nitroverbindungen und organische Nitrate) und bei Verbindungen mit

N-N-oder N=N-Bindung (Azo-, Diazo- und heterocyklische Verbindungen).

2. durch unvollständigen Aufschluß. So sind Pyridin- und Chinolinderivate äußerst widerstandsfähig gegen den Kjeldahl-Aufschluß.
3. durch Entweichen der Analysensubstanz oder von stickstoffhaltigen Spaltprodukten während des Aufschlusses (94).

Die Biuretmethode spricht spezifisch auf Peptidbindungen an, da nur Eiweißkörper aus drei oder mehreren Aminosäuren eine positive, auf der Bildung eines Eiweiß-Alkali-Kupfer-Komplexes beruhende Reaktion, ergeben. Durch kolorimetrische Auswertung der Verfärbungsintensität kann der Proteingehalt quantitativ bestimmt werden. Dieses Verfahren eignet sich besonders für wasser- und salzlösliche Proteine (36).

Das Farbstoffbindungsverfahren basiert auf einer Reaktion zwischen einem geeigneten Farbstoff und den zu bestimmenden Proteinen. Dabei entsteht ein unlöslicher Protein-Farbstoff-Komplex, der abzentrifugiert wird. Die Konzentration des nicht gebundenen Farbstoffes wird kolorimetrisch bestimmt. Fleischfremdes Eiweiß, Eiweißabbauprodukte und Peptidbildung beeinflussen die Genauigkeit dieser Methode. Es ist daher für Fleisch und Fleisch-erzeugnisse nur als Schnellmethode brauchbar (36).

2.2.1.2. Rest-N

Unter Rest-N versteht man den gesamten löslichen, nicht durch Eiweißfällungsmittel fällbaren Anteil an Stickstoffverbindungen (20, 111). Die wichtigsten Fällungsmittel sind Trichloressigsäure, Metaphosphorsäure, Phosphorwolframsäure, Zinkhydroxyd und Uranylacetat. Der Grad der Ausfällung ist je nach Fällungsmittel verschieden. So führt Uranylacetat nicht immer zu einer vollständigen Fällung der Eiweißstoffe. Metaphosphorsäure fällt nur Eiweißstoffe, während Phosphorwolframsäure nicht nur Eiweiß, sondern auch Polypeptide und

einige organische Basen erfaßt. Zinkhydroxyd fällt ausser Eiweiß noch Glutathion und einen Teil der Harnsäure und des Kreatinins (20). Trichloressigsäure führt nur zur Ausfällung von Proteinen und Nucleinsäuren. Polypeptide und Glutathion sowie die anderen niedermolekularen Substanzen wie Aminosäuren, Harnsäure, Harnstoff, Kreatinin bis hinunter zum Ammoniumion bleiben im Filtrat (20, 25, 41, 48, 68, 101).

2.2.2. Organisches Nichtfett

Als organisches Nichtfett (ONF) bezeichnet man die Bestandteile von Fleisch oder Fleischerzeugnissen, die nach Abzug der prozentualen Anteile an Wasser (W), Fett (F) und Asche (A) verbleiben. Der ONF-Wert ist also gleich: $100 - (W + F + A)$ (63).

2.3. Stabilität der N-Substanzen

2.3.1. Proteolytische Vorgänge während der Fleischreifung

Die Reifung des Fleisches erfolgt in der Regel bei der Lagerung. Dies geschieht üblicherweise bei Temperaturen von $2 - 6^{\circ} \text{C}$, um einen bakteriellen Verderb weitgehend auszuschließen (36, 70). Die nach dem Abklingen der Totenstarre aktiv bleibenden fleischeigenen Proteinase, insbesondere die Kathepsine aus den Lysosomen, sind für die nachfolgenden autolytischen Veränderungen der Muskelproteine verantwortlich (14, 36, 46). Aus Rindermuskel wurden drei proteolytische Enzyme mit Aktivitätsoptima bei pH 4,0 - 5,0, 8,0 - 9,0 und 10,0 gewonnen (104).

Während der Kältelagerung steigen der Gehalt an Nicht-Protein-Stickstoff (NPN) und davon besonders der an freien Aminosäuren deutlich an (13, 16, 23, 27, 30, 31, 77, 83, 84, 88, 115, 120).

P a r r i s h (87) führt die Zunahme des NPN und der freien Aminosäuren im postmortalen Rindermuskel auf den Abbau von Protein und/oder Peptiden während der Lagerung zurück. Der Anstieg freier SH-Gruppen während der Reifung ist nach B a t e - S m i t h (4) als Anzeichen einer beginnenden Denaturierung der Muskelproteine zu betrachten.

Während einer 24-stündigen Reifung von Rindfleisch bei 4° C stellten S c h o r m ü l l e r und A d - l e r (100) keine Veränderungen der Gesamt-N- und Rest-N-Werte fest. L o c k e r (74) dagegen ermittelte bei einer Lagerungstemperatur von 2° C bis 2 Tage nach der Schlachtung sogar einen leichten Abfall des NPN und der freien Aminosäuren, dem anschließend eine deutliche Zunahme über die Ausgangswerte folgte. Innerhalb von 14 Tagen stieg der NPN um 8 - 20 % und die freien Aminosäuren um 22 - 33 % an. D v o r a k (21) konnte nach derselben Zeit, jedoch bei einer Lagertemperatur von 5° C, eine Zunahme der freien Aminosäuren um ca. 60 % feststellen. Auch nach einer 2-wöchigen Lagerung bei 2° C stieg der Aminosäuregehalt auf beinahe das Doppelte des Anfangsgehaltes an (84).

Während zu Beginn der Reifung der Anteil des Aminosäuren-N am Rest-N für saure und neutrale Aminosäuren bei 2,8 % liegt, beträgt er nach 14 Tagen bereits 5,4 % (100). Dem deutlichen Anstieg von Glutaminsäure, Tyrosin und Tryptophan steht ein Abfall von Glutathion gegenüber. Der Tryptophangehalt stieg bei einer Lagerzeit von 10,5 Tagen von 2,5 auf 17,9 µg/g N an, während der Methioningehalt selbst noch nach 3 Wochen auffallend konstant war (12, 74). Die übrigen Aminosäuren zeigten keine oder quantitativ kaum erfaßbare Veränderungen (27, 74).

Auch der Kreatingehalt ändert sich während der Fleischreifung nicht (50).

Die Proteolyse ist temperaturabhängig und verläuft bei 37° C schneller als bei 5° C (70).

Während der 6-monatigen Lagerung von Rindermuskel bei 37° C unter keimfreien Bedingungen wurde von S h a r p (104) ein kontinuierlicher Proteinabbau und eine Zunahme derjenigen N-haltigen Nichteiweißstoffe, die mit Trichloressigsäure (TCA) nicht fällbar waren, festgestellt. Das Kollagen scheint sich nicht zu verändern, denn es wurden keine löslichen hydroxyprolinartigen Moleküle in derart gereiftem Fleisch gefunden. Auch die Feinstruktur der Myofibrillen blieb erhalten (104, 121). Der autolytische Effekt beschränkte sich hauptsächlich auf die sarkoplasmatischen Proteine, auf deren Abbau die gesamte Zunahme der mit TCA nicht fällbaren Stickstoffsubstanzen zurückzuführen war. P a r t m a n n (89) dagegen ist der Ansicht, daß bei der Fleischreifung bei 21° C neben den Proteinen der Muskelfasern auch das Bindegewebe abgebaut wird.

2.3.2. N-Veränderungen durch Erhitzung

Die Erhitzung von Fleisch und Fleischerzeugnissen hat die Denaturierung des Eiweißes zur Folge, die mit einer strukturellen, intramolekularen chemischen Veränderung der Proteine und dem Verlust der natürlichen physiologischen Eigenschaften verbunden ist (50, 55, 75).

Temperaturen bis 50° C verursachen nur eine reversible "Aufweichung" der Proteinstruktur. Bei ziemlich genau 53° C setzt die irreversible Denaturierung ein (108).

Die Proteine des Fleisches erfahren bei der Erhitzung nach H o f m a n n und H a m m (50) vor allem drei, eng miteinander zusammenhängende Veränderungen:

1. Zunahme reaktionsfähiger SH-(Sulphydryl) Gruppen
2. Veränderungen der Aminosäuren-Zusammensetzung
3. Abspaltung von Schwefelwasserstoff

Bei Temperaturen von 100 - 120° C stehen Zersetzungserscheinungen und Abspaltung flüchtiger Verbindungen, insbesondere von Schwefelwasserstoff, im Vordergrund. Die SH-Gruppen, die im nativen Zustand im Innern des

Moleküls verborgen sind, werden durch die Denaturierung "demaskiert" und reaktionsfähig, so daß sie mittels der SH-Gruppenbestimmung nachgewiesen werden können (50, 55). Bei den reaktionsfähigen SH-Gruppen ist im Temperaturbereich von 10 - 70° C eine Zunahme und bei 120° C eine geringe Abnahme feststellbar. Demnach dürften die Denaturierungsvorgänge bei 70° C abgeschlossen sein (50). Bei einer Erhitzung über 70° C denaturiert Kollagen und es erfolgt ein nicht enzymatischer Abbau zu hydroxyprolinartigen Derivaten (104).

Die Erhitzung hat nicht nur einen Verlust an Wasser sondern auch eine Abnahme an ernährungsphysiologisch wertvollen N-Substanzen zur Folge (116). So fanden Z i e g e l m a y r (122) und H a m m (42) einen Stickstoffaustritt beim Kochen von 3,0 - 21,7 % gegenüber dem Rohmaterial. Von K o t t e r und L e h m a n n (59) wurden nach dem Kochen von fettarmem, sehnenfreiem Rindfleisch ONF-Verluste von ca. 8 % festgestellt. Es ist aber zu beachten, daß diese N-Abnahmen in nicht geschlossenen Behältnissen beobachtet wurden und ausserdem das ONF Kohlenhydrate, organische Säuren usw. beinhaltet. Die Stickstoffverluste steigen mit dem Erhitzungsgrad an (116).

Bei Temperaturen über 120° C treten bei den essentiellen Aminosäuren Verluste zwischen 10 und 16 % auf. Der Gehalt an Cystin, einer zwar nicht essentiellen, aber als Schwefelquelle gemeinsam mit Methionin sehr wichtigen Aminosäure, verringert sich sogar um ca. 25 %, während die nicht essentiellen Aminosäuren auch bei 5-stündiger Hitzeeinwirkung verhältnismäßig stabil bleiben (50).

Bei feinzerkleinertem, auf 120° C erhitztem Fleisch konnten 14,8 - 19,3 µg H₂S pro Gramm Protein gefunden werden. Da bei Erhitzung von Myofibrillen etwa die gleichen Mengen H₂S freigesetzt werden, ist anzunehmen, daß der Schwefelwasserstoff im wesentlichen von

den strukturellen Muskelproteinen und nicht von den löslichen Inhaltsstoffen des Fleisches stammt. Nur etwa 2 - 3 % der SH-Abnahme sind der Bildung von H_2S zuzuschreiben (50).

2.4. Nährwert der N-haltigen Inhaltsstoffe

2.4.1. Kalorischer Nutzwert

Eiweiß liefert in der kalorimetrischen Bombe einen Brennwert von 5,6 kcal/g. Da aber Proteine im Körper nicht vollständig verbrannt werden, ergibt sich ein mittlerer physiologischer Brennwert von 4,1 kcal/g Eiweiß (37, 56, 93).

2.4.2. Biologische Wertigkeit

Die biologische Wertigkeit gibt an, wieviel g Körpereiweiß aus 100 g verdaulichem Protein gebildet werden (49). Die biologische Wertigkeit ist nicht nur vom Gehalt an essentiellen Aminosäuren und ihrem Verhältnis untereinander, sondern auch von deren Verhältnis zu anderen für den Eiweißaufbau benötigten Stickstoffverbindungen abhängig (37). Wenn gleichzeitig essentielle und nicht essentielle Aminosäuren in ausreichender Konzentration vorhanden sind, ist die beste Ausnützung des zugeführten Eiweißes zu erwarten. Zu den wichtigen nicht essentiellen Aminosäuren gehören vor allem Arginin, Prolin, Serin, Tyrosin und Cystin (29, 37, 49, 55).

Da Bindegewebe nur geringe Mengen an essentiellen Aminosäuren enthält, beträgt die biologische Wertigkeit von Kollagen allein nur 25, gegenüber 76 bei Muskeleiweiß, 90 bei Milcheiweiß und 100 beim Eiweiß des Volleis (12, 75). Nach K o f r a n y i und J e k a t (58) hat Muskelfleisch allein die biologische Wertigkeit 92. Bei einer Mischung von 84 % Fleisch-N mit 16 % Gelatine-N (denaturiertes Kollagen) erhöhte sich die biologische Wertigkeit

auf 99. Nach ihren Bilanzversuchen an Menschen hat sogar die Mischung 1 : 1 noch die gleiche biologische Wertigkeit wie reines Muskelfleisch. Auch ein Gelatineanteil von 70 % führt nach ihren Untersuchungen noch zu einem Bilanzausgleich der Stickstoffsubstanzen. L o e w i t (75) stellte im Tierversuch bis zu einem Kollagengehalt von 20 % am Gesamtprotein keine negativen Auswirkungen fest.

Eine ungünstige Aminosäurezusammensetzung führt zu sog. "Aminosäuren-Imbalancen", die sich negativ auf Wachstum bzw. Gewichtszunahme auswirken (117).

Im Eiweiß der Skelettmuskulatur sind alle essenziellen Aminosäuren in genügendem Maße vorhanden (70).

2.4.3. Spezifisch-dynamische Wirkung von Eiweiß

Die spezifisch-dynamische Nahrungswirkung ist die Anzahl der über die Grundumsatzhöhe hinaus entwickelten Kalorien in Prozent der verzehrten Kalorien (63, 92). Nach P i c h o t k a (92) und R a p o p o r t (96) verändert die Zufuhr von Nahrungsstoffen die Wärmebildung durch Steigerung der Verdauungsarbeit und durch Einwirkungen auf den Zwischenstoffwechsel. Die spezifisch-dynamische Wirkung ist bei Eiweißen mit einer Erhöhung der Wärmebildung um ca. 30 - 40 % besonders stark ausgeprägt.

2.5. Beurteilung von Fleischerzeugnissen nach dem Eiweißgehalt

2.5.1. Bestimmung über den Gesamt-N-Gehalt

Das Produkt Gesamt-N x 6,25 wird als Rohprotein bezeichnet (65). Bei Fleischwaren umfaßt dieser Wert Muskeleiweiß, Bindegewebsweiß, Proteine der Innereien,

Nichteiweißstickstoffsubstanzen und eventuell vorhandenes Fremdeiweiß (9, 63).

Nach K o t t e r (63, 64, 65, 66) und P r ä n d l (90, 91) ist der Gehalt an hochwertigem Muskeleiweiß der entscheidende Parameter für die Gütebeurteilung von Fleischerzeugnissen. K o t t e r (64) sagt: "Wertbestimmend ist in Fleischerzeugnissen der absolute Anteil an binde- und fettgewebefreiem Fleisch und dessen relativer Anteil am Gesamtfleisch. Ein ausreichend hoher Anteil an solchem Fleisch liegt dann vor, wenn bestimmte Mindestwerte für den Muskeleiweißgehalt im Gesamterzeugnis und im fremdeiweißfreien Eiweiß erreicht sind."

Um den Anteil an Muskeleiweiß aus dem Rohproteingehalt zu berechnen, muß dieser Wert zunächst korrigiert werden. Dies geschieht durch Differenzierung der N-Substanzen und Umrechnung mit entsprechenden Faktoren (60, 66). Die Berechnung erfolgt nach folgendem Beispiel (60):

$$\text{Muskeleiweiß} = \left(\text{Gesamt-N} - \frac{a}{x_a} - \frac{b}{x_b} \right) \times 6,25$$

a = z.B. Bindegewebeseiweiß

b = z.B. Milcheiweiß (Fremdeiweiß)

$\left. \begin{matrix} x_a \\ x_b \end{matrix} \right\}$ entsprechende Umrechnungsfaktoren

Nichteiweißartige N-haltige Stoffe werden dabei bisher nicht berücksichtigt.

In der Regel liegt der Rohproteinwert höher als der ONF-Wert (37, 96, 98). Wenn jedoch die Wurst nennenswerte Mengen an Kohlenhydraten enthält, ist der Rohproteinwert normalerweise niedriger als der ONF-Wert (37).

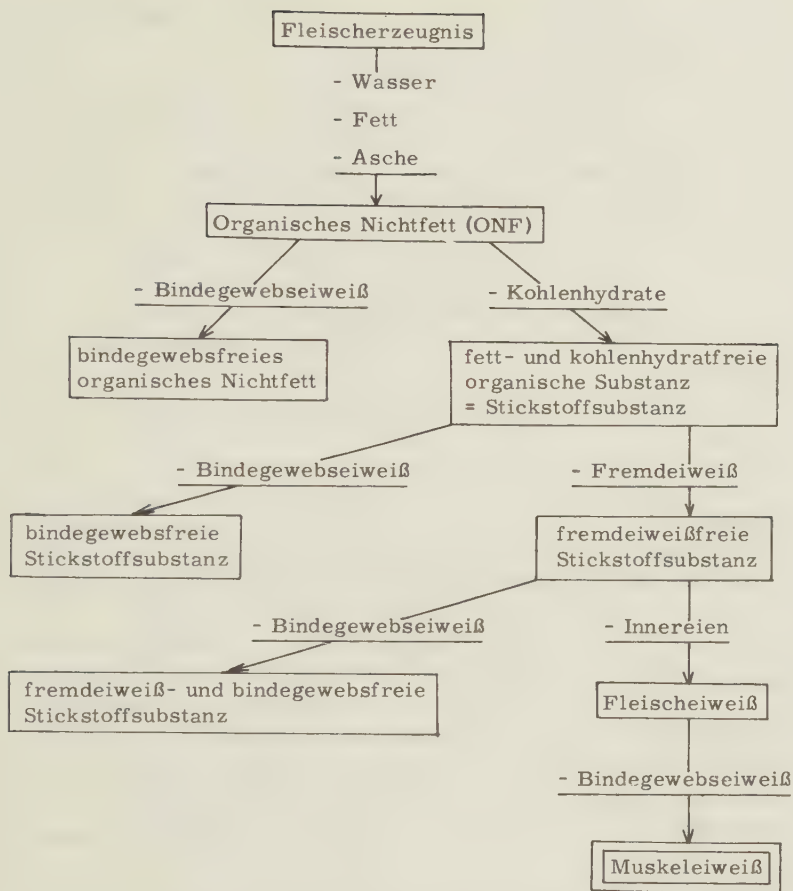
2.5.2. Bestimmung über ONF

B e r t l i n g (8) hält die Weiterverwendung des Be-

griffes "organisches Nichtfett" für nicht sehr zweckmäßig, da infolge der zahlreichen nicht-N-haltigen Zusätze ONF weitgehend nicht dem Proteingehalt entspricht und daher die Summe aus Wasser, Fett, Eiweiß und Asche selten oder nie 100 % beträgt. Auch von L i n k e und A r n e t h (73) wird die Bestimmung über ONF kritisiert, da sie zu langwierig sei und die bei den einzelnen Bestimmungen gemachten Fehler summarisch auf den ONF-Wert übertragen würden. Sie sind der Ansicht, daß dem aus dem Stickstoffgehalt mittels 6,25 errechneten Rohprotein ein geringerer Fehler anhaftet, weil nur ein methodischer und ein faktorenbedingter Fehler vorkommen kann.

Der ONF-Wert liegt bei Wurstwaren im Mittel niedriger als der Rohproteinwert. Die Differenz beträgt durchschnittlich ca. 1,1 % und steigt mit zunehmendem Bindegewebsgehalt an. Bei einem Bindegewebsgehalt von über 40 % im Rohprotein treten Abweichungen von mindestens 2,6 % auf. Dies ist wie bereits erwähnt auf einen zu hohen Multiplikationsfaktor zurückzuführen (73).

K o t t e r (65) besteht deshalb auf einem Vergleich von Rohprotein und ONF. Wenn sich die Werte nicht decken, soll der niedrigere Wert des Rohproteins gelten. Umgekehrt soll, wenn der Wert von ONF minus nachgewiesenen Kohlenhydraten niedriger liegt als der Rohproteinwert mit ONF weitergerechnet werden. Wenn der undifferenzierte Rohproteinanteil oder der Wert für das organische Nichtfett bereits unter dem geforderten Minimum an bindegewebsfreiem Fleischeiweiß liegen, ist eine Differenzierung des Rohproteins nicht erforderlich. Werden dagegen die geforderten Grenzwerte erfüllt, so soll nach K o t t e r und Mitarbeiter (63) der ONF-Anteil nach folgendem Untersuchungsgang differenziert werden:



Beim Nachweis solcher Fremdeiweiße, deren Zusatz verboten ist, oder bei überhöhtem Reststickstoffgehalt, sind weitere Analysen und Berechnungen überflüssig. Solange Stickstoffsubstanzen, die kein Fleischeiweiß sind, nicht erschöpfend ausgeschlossen werden können, ist der undifferenzierte Rohproteinanteil allerdings wie bisher als Fleischeiweiß zu werten. Wird Bindegewebseiweiß nicht erschöpfend erfaßt, muß der undifferenzierte Fleischeiweißanteil als bindegewebsfreies Fleischeiweiß gewertet werden (67).

2.5.3. Gesamt-N und Rest-N in Fleisch und Fleisch- erzeugnissen

L i n d n e r und P a ' t s c h k y (71) untersuchten Rind- und Schweinefleisch sowie Blut- und Leberwürste auf Gesamt-N- und Rest-N-Gehalt. Folgende Werte sind auszugsweise aus ihren Tabellen wiedergegeben:

Bezeichnung	Ges-N in % Frischgewicht	Rest-N in %	A-Wert*
<u>Rind:</u>			
Bauchlappen	3,10	0,40	12,9
Keule	3,61	0,52	14,4
Schulter	3,79	0,40	10,5
Rippenstück	3,40	0,40	11,8
<u>Schwein:</u>			
Schwarten, roh	5,22	0,12	2,3
Schwarten, 1Std. gekocht	5,23	0,60	11,5
Schlegel	2,85	0,34	11,9
Bug	2,60	0,14	5,4
Halsgrat	2,75	0,14	5,1
<u>Blutwurst:</u>			
Blutwurst	2,50	0,14	6,0
Blutwurst mit 10 %	2,41	0,14	5,8
Schwarten			
<u>Leberwurst:</u>			
Leberwurst	1,43	0,15	10,5
Leberwurst mit 10 %	1,65	0,20	12,1
Schwarten			

* = (Rest-N in % des Gesamt-N)

Der statistische Mittelwert für A beträgt nach L i n d -
n e r und P a t s c h k y (71) bei Schweinefleisch
 $9 \pm 2,4 \%$ und bei Rindfleisch $11,9 \pm 1,2 \%$.

F a u t z (22) fand bei frischem Schweinefleisch einen
Gesamt-N-Gehalt von $3,06 \%$ und einen prozentualen Anteil
des TCA-löslichen Stickstoffs am Gesamt-N von $9,18 \%$.

Aus dem Gesamt-N x Faktor 6,25 haben H e r o l d und H a r i g e l (47) bei 96 % aller untersuchten Brühwurstproben einen Rohproteingehalt von über 10 % festgestellt. L i n d n e r und S t a d e l m a n n (72) ermittelten bei Gelbwurst einen durchschnittlichen Rohproteingehalt zwischen 10,5 und 11 %. Auch bei Fleischwurst mittlerer Qualität kann ein Rohproteingehalt von 11 % erwartet werden (7, 17, 47, 107).

2.6. Erhöhung des Gesamt-N-Gehaltes durch Fremdeiweiß und Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen

2.6.1. Fremdeiweiß tierischer Herkunft

Wegen ihrer technologischen Bedeutung dürfen gewisse Fremdeiweiße bis zu genau festgelegten Höchstmengen und unter Kennzeichnung bei der Herstellung von bestimmten Fleischerzeugnissen verwendet werden. Fremdeiweiße werden aber auch zugesetzt um Muskeleiweiß zu ersetzen und den Rohproteingehalt verfälschend zu erhöhen. Zu den am häufigsten verwendeten Fremdeiweißen tierischer Herkunft zählen aufgeschlossenes Milcheiweiß, Molkenproteine, Magermilchpulver, Fisch-eiweiß und Hühnereiklar (24, 61). Alle Fremdeiweiße lassen sich nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ erfassen (39, 61).

2.6.2. Fremdeiweiß pflanzlicher Herkunft

Auch bestimmte Fremdeiweiße pflanzlicher Herkunft werden sowohl wegen ihrer günstigen technologischen Eigenschaften als auch zur Anreicherung von Eiweiß bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen verwendet (11, 57, 61, 68). Die Verwendung von pflanzlichem Fremdeiweiß ist aber nach § 3 Nr. 5 der Fleisch-Verordnung grundsätzlich verboten. Ausnahmen sind in §§ 4 und 4a enthalten (i.d.F.v. 11. Dez. 1969, BGBl. I S. 2091).

Zu den wichtigsten Fremdeiweißen pflanzlichen Ursprungs zählen Sojaweiß, Hefeweiß und Cerealien-eiweiß (38, 97). Der Gesamtstickstoff besteht bei einigen pflanzlichen Proteinen (z.B. Kartoffeleiweiß, Maiseweiß, Bohnenmehl und Hefen) zu einem wesentlichen Teil aus Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen (97, 99, 103). Dagegen läßt sich in isoliertem Sojaweiß (Promine D), das einen Gesamt-N-Gehalt von 15,1 % hat, kein Nichteiweiß-Stickstoff nachweisen (11, 68). Sojaweiße werden bereits seit Jahrzehnten als "Bindemittel" für Fleischerzeugnisse eingesetzt (26). So stellte B o c k s c h (11) durch Zusatz von 3,0 % isoliertem Sojaprotein zu Brühwürsten eine Erhöhung des Rohproteinwertes um ca. 1,8 % fest, ohne daß Geschmacksabweichungen auftraten.

2.6.3. Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen

Durch übermäßigen Zusatz von Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen kann der Gesamt-N-Gehalt von Fleischwaren verfälschend erhöht werden (63, 112). Verwendet werden vor allem Extrakte und Hydrolysate aus Eiweiß pflanzlichen und tierischen Ursprungs sowie synthetisches Kreatin und Harnstoff (64, 97, 112).

Fleischextrakt ist eine dunkelbraune, zähe Paste von aromatischem Geruch und Geschmack, die durch Eindicken der wäßrigen Auszüge aus Frischfleisch unter Entzug der fällbaren Eiweißstoffe und der Fette gewonnen wird (36). Der Stickstoffgehalt beträgt ca. 8,5 - 9,5 %, der Kreatingehalt 4,5 - 6 %. Rindfleischextrakt kann durch Zusatz von synthetischem Kreatin verfälscht werden. Es gibt auch billige kreatinreiche Gemische, die in ihrer chemischen Zusammensetzung dem Rindfleischextrakt ähnlich sind (112).

Bei Walfleischextrakt wurden ca. 10,9 % Gesamt-N-Gehalt und ca. 4,8 % Kreatin gefunden (36, 112). Fischextrakte sind nicht im Handel und werden wegen ihres störenden

Beigeschmacks für Fleischerzeugnisse kaum Verwendung finden (112).

Hefeextrakte werden je nach Art der Gewinnung in Auto- oder Plasmolysate unterschieden (36, 97). Rein enzymatisch gewonnene Hefeextrakte werden als Autolysate bezeichnet. Plasmolysate werden durch Einwirkung von Kochsalz auf Hefe unter Wärmezufuhr hergestellt. (19, 36).

Dagegen sind Hydrolysate von Hefen Suppenwürzen, die sich in ihrer Zusammensetzung wesentlich von den Extrakten unterscheiden (18, 36, 97).

Gute Hefeextrakte sollen mindestens 4,5 % Gesamt-N und 2 % Aminosäuren-N enthalten (97). Bei Zusatz von fremdartigen Stoffen (Ammoniumsalze, Harnstoff oder andere stickstoffhaltige Substanzen) werden Hefeextrakte als verfälscht im Sinne des § 4 LMG angesehen. Sie sind dann auch bei Kenntlichmachung vom Verkehr ausgeschlossen (36).

„Würzen sind aminosäurenhaltige Erzeugnisse, die hauptsächlich durch Hydrolyse von Proteinen oder proteinreichen Stoffen gewonnen werden, mit oder ohne Zusatz von Fleischextrakt, Hefeextrakt oder anderen proteinreichen Extrakten und/oder Gewürzen“ (EWG-Entwurf VI/F/3 vom 24.5.1965), zit. nach Grau (36). Die Verordnung über Fleischbrühwürfel und ähnliche Erzeugnisse bestimmt in § 4, daß Würzen nur aus hygienisch einwandfreien Fleischmehlen, Blutmehlen, Rückständen der Fischverarbeitung, Knochenbrühextrakten, Casein, Hefe, Hefeextrakt, Getreidekleber, Preßrückständen der Speiseölgewinnung, Sojabohnen und entbitterten Lupinen durch Abbau des Eiweißes hergestellt werden dürfen.

Die EWG-Richtlinien fordern für Würzen einen Mindestgehalt an Gesamt-N von 5 %, davon soll mindestens die Hälfte Aminosäurenstickstoff sein. Der Zusatz von Kreatinin und anderen Stickstoffverbindungen ist verboten (36). Synthetisches Kreatin und Harnstoff sind N-haltige Stoffe zur Erhöhung des Rohproteingehaltes (97, 112).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Problemstellung

An der Höhe des Rest-N-Gehaltes läßt sich erkennen, ob ein Fleischerzeugnis vorliegt, dem Nichteiweiß-Stickstoffsubstanzen zugesetzt wurden, um seinen Rohproteinwert künstlich zu erhöhen.

Bei Brühwürsten ist eine derartige Verfälschung vor allem dann zu erwarten, wenn Rezepturen durch zu geringen Fleischanteil den geforderten Rohproteinwert nicht erreichen. Auch weit über der Norm liegende Rohproteinwerte können auf einen NPN-Zusatz hinweisen, da dem aus dem Fleischeiweiß stammenden Rohprotein aus technologischen Gründen Grenzen gesetzt sind.

Um die Veränderungen von Gesamt-N- und Rest-N-Gehalt nach Zusatz verschiedener handelsüblicher Extrakte, Hydrolysate und Harnstoff zu prüfen, wurden Modellbrühwürste hergestellt. Die Rezepturen wurden vornehmlich so gewählt, daß der Rohproteingehalt ($N \times 6,25$) nahe an den unteren Grenzwerten lag. Hierdurch sollte der für NPN-Verfälschungen interessante Bereich erfaßt werden.

Da sich Harnstoff spezifisch nachweisen läßt, wurde eine in der Medizin übliche enzymatische Nachweismethode übernommen und auf ihre Anwendbarkeit bei Fleischerzeugnissen geprüft.

Bei der Erhitzung von Fleischwaren wurde eine Abnahme des Stickstoffgehaltes beschrieben (46, 59, 122). Aus diesen Gründen wurde auch bei den Modellbrühwürsten der Einfluß der Temperaturen auf Gesamt-N- und Rest-N-Gehalt untersucht.

Zu Vergleichszwecken wurden Proben aus dem Handel entsprechend analysiert.

3.2. Allgemeiner Versuchsablauf und Material

Das Ausgangsmaterial für die Brühwurstherstellung bestand aus abgehangenem Rindfleisch von der Schulter, frischem Rückenspeck und gegebenenfalls gekochten, zerkleinerten Schwarten. Die Bräts wurden nach unterschiedlichen Rezepturen in einem 3-Liter Tischkutter in Chargen zu je 1 kg hergestellt. Eine Charge, die nur mit Nitritpökelsalz, Gewürzen und Natriumascorbat ohne weitere Zusätze hergestellt wurde, diente als Kontrolle. Das gewolfte Rindfleisch wurde mit dem Nitritpökelsalz einige Runden trocken ausgekuttert. Danach erfolgte die fraktionierte Zugabe des Eises. Anschließend wurde der frische und im Wolf zerkleinerte Speck, bei einer Charge auch Schwarten, eingearbeitet. Die Zugabe von Gewürz, Natriumascorbat und der zu prüfenden Zusätze erfolgte kurz vor Ende des Kuttervorganges. Danach wurde noch 10 Runden weitergekuttert, um eine gründliche Vermengung der Bestandteile zu erreichen. Das Brät der "Bierwurst" bestand aus einem mäßig geschütteten Magerbrät in das durchwachsendes und angefrorenes Schweinefleisch bis zur gewünschten Körnung eingearbeitet wurde. Anschließend wurden die Bräts in Gläser mit Sicherheitsvakuum-Verschluss abgefüllt und im Autoklaven* auf eine Kerntemperatur von 75°C bzw. 115°C erhitzt. Nach dem Erreichen der gewünschten Kerntemperatur wurden die Gläser langsam abgekühlt und 12 Stunden bei $+6^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Nach der Homogenisierung des Wurstgutes wurde dessen Geschmack geprüft, der pH-Wert gemessen und nach den im folgenden beschriebenen Methoden untersucht.

Die in Tabelle 1 - 6 erhaltenen Ergebnisse stellen Mittelwerte zweier Bestimmungen dar.

Die theoretischen Werte in Tabelle 1 - 5 wurden durch Addition der analytisch ermittelten Gesamt-N- bzw. Rest-N-Werte der verwendeten Zusätze mit den entsprechenden Werten der Kontrollcharge der Würste erhalten.

* Handelsname: Korimat, Fa. Lutz KG

3.2.1. Methodik der Gesamt-N-Bestimmung

Der Gesamt-Stickstoff wurde mit der in der Lebensmittelchemie üblichen Methode nach Kjeldahl bestimmt. Als Katalysator wurde Selenreaktionsgemisch nach Wienerer verwendet (10, 101).

Der Rohproteingehalt wurde aus dem Gesamt-N nach folgender Formel berechnet:

$$P = \text{Gesamt-N} \times 6,25$$

3.2.2. Methodik der Rest-N-Bestimmung

Zur Reststickstoffbestimmung wurden 20 g des feinzerkleinerten Fleisches oder Fleischerzeugnisses im Star-mix ca. 1 Minute mit 50 ml 15 %iger Trichloressigsäure homogenisiert, in einen 100 ml Kolben filtriert und der Rückstand mit 8 %iger Trichloressigsäure dreimal nachgewaschen. Vom Filtrat wurden 25 ml in einen Kjeldahlkolben pipettiert und der N-Gehalt nach der Kjeldahlmethode bestimmt (37).

3.2.3. Methodik des Harnstoffnachweises

Urease reagiert spezifisch mit Harnstoff unter Bildung von CO_2 und NH_3 . Das gebildete Ammoniak kann durch Titration oder nach Destillation bzw. Diffusion (Conway-Technik) oder aber durch Änderung des pH-Wertes nachgewiesen werden (109).

Zum Nachweis von Harnstoff-N in Fleischwaren wurde das Teststäbchen "Azostix"* verwendet. Dabei handelt es sich um eine semiquantitative Schnellmethode, die exakte Analysenmethoden nicht ersetzen kann, da störende Substanzen vorhanden sein können (Fluoride, Ammoniumverbindungen, usw.) (81).

Die Reaktionszone des Teststreifens ist mit hochgereinigter Urease sowie Bromthymolblau als Farbindikator imprägniert. Der im Ausgangsmaterial enthaltene

* Azostix-Test, Fa. Merck (Ames)

Harnstoff wird durch das Enzym Urease gespalten. Durch das entstehende Ammoniak wird der pH-Wert der Reaktionszone erhöht. Die pH-Verschiebung wird durch eine Farbänderung des Indikators Bromthymolblau (Umschlagsbereich pH 6,0 - 7,6) von der Ausgangsfarbe gelb nach sich vertiefenden grünblauen Farbtönen angezeigt (81, 95).

Um die Nachweisgrenzen für Harnstoff in Fleischwaren festzustellen, wurden in einem Vorversuch Modellbrühwürste mit Harnstoffzusätzen zwischen 0,1 - 0,9 g/kg Brät nach folgender Rezeptur hergestellt.

45,0 % Rindfleisch

25,0 % Speck

30,0 % Eis

20,0 g Nitritpökelsalz pro kg Fleisch und Speck

1,0 g Natriumascorbat pro kg Brät

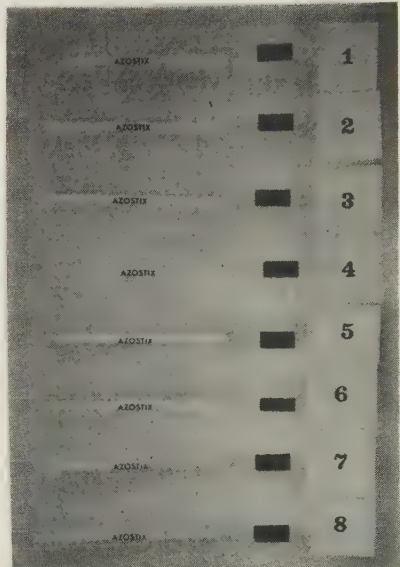
4,0 g Gewürz pro kg Brät

Zur Durchführung des Harnstoff-Testes wurde der pH-Wert gemessen und anschließend die Reaktionszone des Teststreifens auf die homogenisierte Brühwurst gepreßt. Nach 60 Sekunden wurde mit Aqua dest. abgespült und sofort mit der Kontrollskala verglichen.

Die Verfärbung der Teststreifen in Abhängigkeit vom Harnstoffgehalt der Proben zeigt die Abbildung auf folgender Seite:

Char- ge	pH- Wert	Harnstoff- Zusatz in g pro kg Brät	Azo- stix
-------------	-------------	--	--------------

1	6,2	0	-
2	6,2	0,3	-
3	6,3	0,4	-
4	6,2	0,5	±
5	6,3	0,6	±
6	6,2	0,7	±
7	6,2	0,8	+
8	6,3	0,9	++



Zeichenerklärung: - negativ, ± zweifelhaft bis schwach positiv, + positiv, ++ mittelgradig positiv;

Die Proben mit 0,1 bis 0,4 g Harnstoffzusatz waren negativ. Eine Menge von 0,5 bis 0,7 g Harnstoff ergab einen zweifelhaft bis schwach positiven Nachweis. Eine positive Reaktion wurde ab einem Zusatz von 0,8 g beobachtet.

3.2.4. Chemische Zusammensetzung der Zusätze

Es wurden fünf verschiedene Zusätze geprüft.

Präparat A: Harnstoff

Harnstoff ist eine farblose, kristalline und geruchsfreie Substanz, die sich in Wasser leicht löst und neutral reagiert. Harnstoff hat einen leicht bitteren Geschmack und kann billig in großen Mengen synthetisch hergestellt werden. Der Gesamt-N-Gehalt beträgt 46,67 % (95, 97).

Präparat B: Milcheiweiß-Hydrolysat

Das als "Würzstoff mit Kutterhilfsmittleigenschaften" beschriebene Präparat enthält nach Angaben des Herstellers ca. 18 % Aminosäuren, 45 % Milchzucker, 13 % Kochsalz und 24 % Milchsäure. Die Aminosäuren sollen aus enzymatisch abgebautem Lactalbumin stammen.

Die eigene Analyse ergab 2,91 % Gesamt-N und 97,0 % Rest-N-Anteil am Gesamt-N. Eine 4 %ige wässrige Lösung ergab einen positiven Harnstofftest. Das Präparat hatte einen angenehm würzigen Geschmack.

Präparat C: Pflanzliches Hydrolysat

Der Hersteller beschreibt das "Würzmittel C" als leicht wasserlösliches Hydrolysat pflanzlicher Proteine mit folgender Zusammensetzung:

Organische Bestandteile	68,0 %
Anorganische Bestandteile	31,0 %
Gesamt-N-Gehalt	6,0 %
L-Glutaminsäure	5,5 %
Natriumchlorid	9,5 %

Bei der eigenen Analyse wurde ein Gesamt-N-Gehalt von 6,3 % und ein Rest-N-Anteil am Gesamt-N von 84,1 % festgestellt. Der Harnstoffnachweis war negativ. Das Erzeugnis hatte einen ausgeprägten "Maggi"-Geschmack.

Präparat D: Hefe-Autolysat

Die Würze wird vom Hersteller als "Hefe-Autolysat" bezeichnet. Als Analysendaten sind angegeben: 46 % Eiweiß, 94 % Trockensubstanz und 35 % NaCl.

Eigene Untersuchungen ergaben einen Gesamt-N-Gehalt von 5,83 %. Der Rest-N ist mit 94,7 % am Gesamt-N beteiligt. Der Harnstofftest war negativ. Das Erzeugnis hat einen unangenehmen, urinähnlichen Geruch und einen zu intensiv würzigen Geschmack.

Präparat E: Hefe-Hydrolysat

Präparat E wird vom Hersteller als Würze auf Hefe-Hydrolysat-Basis beschrieben. Chemische Analysen-

daten sind nicht angegeben.

Nach eigenen Untersuchungen beträgt der Gesamt-N-Gehalt 7,91 % und der Anteil des Rest-N am Gesamt-N 64,5 %. Der Harnstofftest verlief negativ. Der Geschmack ist angenehm würzig.

3.3. Versuchsdurchführung und Ergebnisse

3.3.1. Modellbrühwürste

Bei der grobsinnlichen Untersuchung des Bräts konnten, abgesehen von den geschmacklichen Veränderungen, keine weiteren Einflüsse durch die zu prüfenden Zusätze festgestellt werden. Eine Veränderung des pH-Wertes durch die einzelnen Präparate war ebenfalls nicht nachzuweisen.

3.3.1.1. Versuchsreihe I

Für die Herstellung von "Fleischwurst einfach" wurde Rindfleisch von der Schulter verwendet. Es hatte einen Gesamt-N-Gehalt von 3,66 % und einen Rest-N-Gehalt von 0,36 %.

Rezeptur:

40,0 % Rindfleisch

35,0 % Speck

25,0 % Eis

20,0 g Nitritpökelsalz pro kg Fleisch und Speck

1,0 g Natriumascorbat pro kg Brät

4,0 g Gewürz pro kg Brät

Verwendete Zusätze: A (Harnstoff)

B (pflanzliches Hydrolysat)

E (Hefe-Hydrolysat)

3.3.1.2. Ergebnisse

S. Tab.1 u. Abb.1

Die Fehlergrenze der Stickstoffbestimmung (Kjeldahl-Methode) betrug $\pm 0,02\%$ N.

Bei Zugaben von 1g A, 1g C und 3g E lagen die Veränderungen der Rohproteinwerte innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei Zusatz von 3g A, 3g C und 5g C sowie 5g A und 2g A + 4g C stieg der Rohproteingehalt vom Kontrollwert 9,4 % auf 9,9 % und bei Zugabe von 4g A + 5g C bis auf 10,4 % an.

Die Veränderungen des TCA-N-Gehaltes blieben bei Zusatz von 1g A und 3g E innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei Zugabe von 1g C, 3g C, 3g A und 5g C wurden bis 0,06 %, bei 5g A, 2g A + 4g C bis 0,08 % und bei 4g A + 5g C bis 0,14 % absolute Erhöhung des Kontrollwertes festgestellt.

Der prozentuale Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt wurde durch 1g A und 3g E nur unwesentlich erhöht. Durch Zusatz von 3g C, 1g C, 3g A und 5g C stieg der Kontrollwert 9,3 % bis auf 12,7 % an. Bei Verwendung von 2g A + 4g C und 5g A wurde eine Erhöhung auf 13,8 bzw. 13,9 % festgestellt und bei Zugabe von 4g A + 5g C stieg dieser Wert bis auf 16,8 % an.

Bei Erhitzung des Bräts auf 115° C konnte gegenüber der Brühtemperatur von 75° C eine Abnahme des Gesamt-N-Gehaltes zwischen 5,9 und 12,7 % (bezogen auf Frischgewicht) beobachtet werden. Die TCA-N-Werte zeigten unwesentliche Veränderungen.

Der Harnstoffnachweis war bei den Chargen 2,3,4,8 und 9 stark positiv.

Tab. 1

Tab. 1

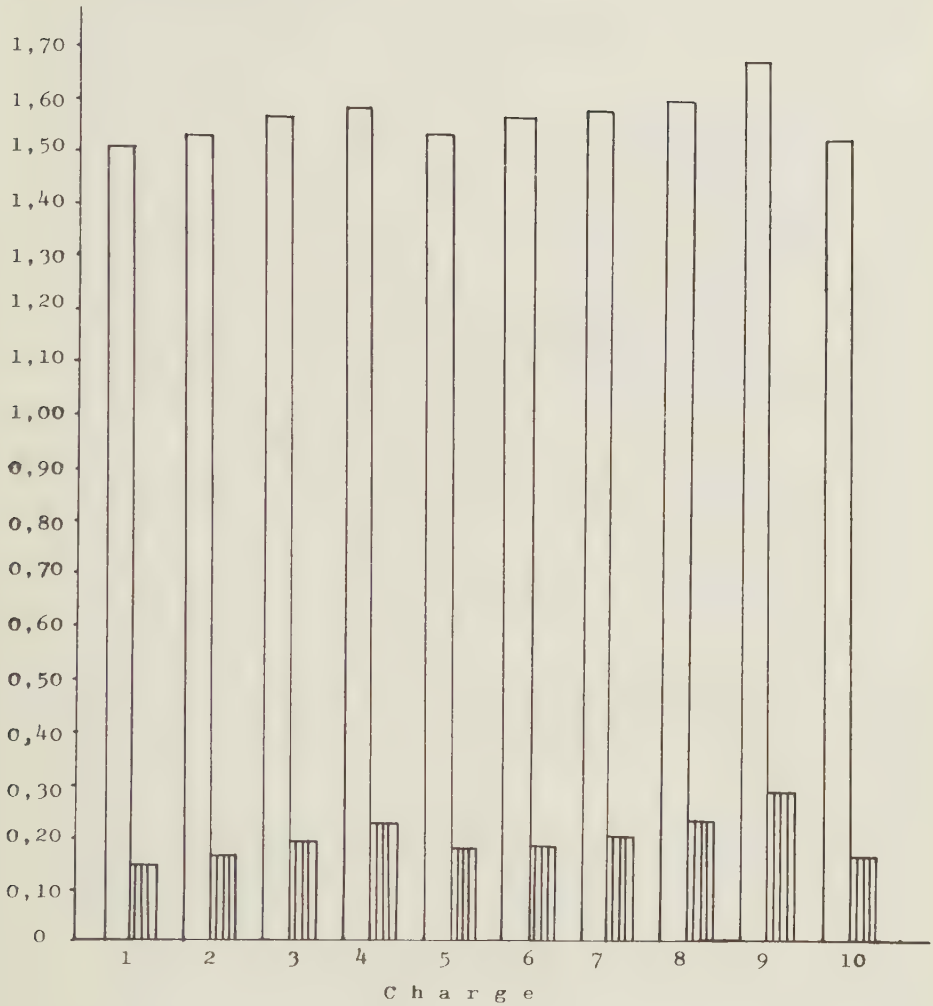
			Erhitzung auf 75° C							Erh.a. 115° C ermitt. Werte		Azo- stix	
			theor. Werte*		ermittelte Werte								
Char- ge	Zu- satz p.kg Brät	Geschmack pH- Wert des Bräts	Ges-N in % Frishgew.	TCA-N in % Frishgew.	Ges-N in % Frishgew.	TCA-N in % Ges-N	TCA-N in % d. Ges-N	Roh- pro- tein in %	Ges-N in % Frishgew.	TCA-N in %	Abnahme d. Ges-N b. 115°C in % d. Ges-N b. 75°C		
1	0	fleischig- würzig	6,3	1,51	0,14	1,51	0,14	9,3	9,4	1,40	0,16	7,3	-
2	1g A	fleischig- würzig	6,2	1,55	0,19	1,53	0,16	10,5	9,6	1,39	0,16	9,3	+++
3	3g A	bitterer Beigeschm.	6,3	1,60	0,23	1,56	0,19	12,2	9,8	1,37	0,21	12,2	+++
4	5g A	ungenieß- bar	6,3	1,64	0,27	1,58	0,22	13,9	9,9	1,38	0,24	12,7	+++
5	1g C	fleischig- würzig	6,3	1,52	0,15	1,53	0,18	11,7	9,6	1,44	0,16	5,9	-
6	3g C	besser als 5	6,2	1,53	0,18	1,56	0,18	11,5	9,8	1,41	0,19	9,6	-
7	5g C	etwas n. "Maggi"	6,3	1,55	0,18	1,57	0,20	12,7	9,8	1,42	0,20	9,1	-
8	2g A	leicht	6,3	1,62	0,25	1,59	0,22	13,8	9,9	1,43	0,22	10,1	+++
9	+ 4g C	bitter	6,3	1,72	0,34	1,67	0,28	16,8	10,4	1,51	0,23	9,6	+++
10	+ 5g C 3g E	Beigeschm. würzig	6,3	1,53	0,16	1,52	0,16	10,6	9,5	1,43	0,16	5,9	-

Zeichenerklärung: - negativ; +++ stark positiv

* Erklärung siehe Text

Abb. 1

N-Gehalt in % Frischgewicht



Gesamt-N-Gehalt



TCA-N-Gehalt

3.3.1.3. Versuchsreihe II

Zur Herstellung der "Fleischwurst einfach" wurde Rindfleisch von der Schulter verwendet. Es hatte einen Gesamt-N-Gehalt von 2,91 % und einen Rest-N-Gehalt von 0,28 %.

Rezeptur:

35,0 % Rindfleisch

35,0 % Speck

5,0 % Schwarten

25,0 % Eis

20,0 g Nitritpökelsalz pro kg Fleisch und Speck

1,0 g Natriumascorbat pro kg Brät

4,0 g Gewürz pro kg Brät

Verwendete Zusätze: A (Harnstoff)

B (Milcheiweiß-Hydrolysat)

C (pflanzliches Hydrolysat)

3.3.1.4. Ergebnisse

S. Tab.2 u. Abb.2

Die Fehlergrenze der Stickstoffbestimmung (Methode nach Kjeldahl) betrug $\pm 0,02$ % N.

Bei Zusatz von 1g A, 1g C, 3g C und 3g E lagen die Veränderungen der Rohproteinwerte innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Durch Zugabe von 2g A + 4g C, 5g C, 3g A und 7g C stieg der Rohproteingehalt vom Kontrollwert 9,4 % auf 9,9 %. Dieser Wert erhöhte sich bei Zusatz von 4g A + 5g C und 5g A bis auf 10,5 %.

Die Veränderungen des TCA-N-Gehaltes blieben bei Zusatz von 1g A, 1g C, 3g C, 5g C und 3g E innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei 7g C, 2g A + 4g C und 3g A betrug die absolute Zunahme bis 0,07 % und bei 5g A und 4g A + 5g C bis 0,13 %.

Der prozentuale Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt wurde durch 1g A, 1g C, 3g C und 5g C nicht wesentlich erhöht. Durch Zusatz von 7g C und 3g A stieg der Kontrollwert 10,6 % auf 14,6 % an und bei Verwendung von 5g A und 4g A + 5g C stieg dieser Wert bis auf 17,3 % an.

Bei Erhitzung des Bräts auf 115° C konnte gegenüber der Brühtemperatur von 75° C eine Abnahme des Gesamt-N-Gehaltes zwischen 4,6 und 10,9 % beobachtet werden (bezogen auf Frischgewicht), während die TCA-N-Werte nur geringfügig zunahmen.

Der Harnstoffnachweis war bei den Chargen 2,3,4,9 und 10 stark positiv.

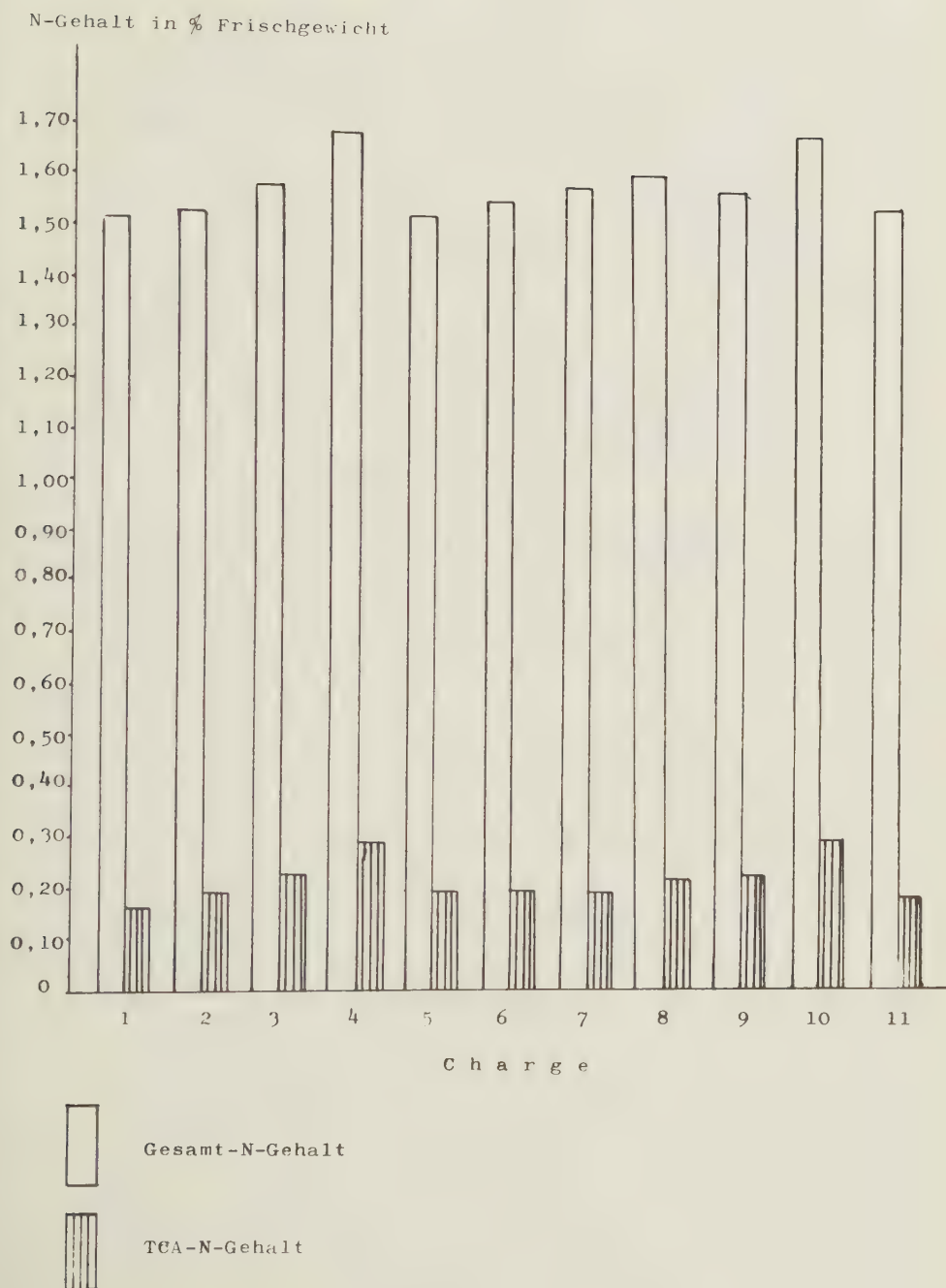
Tab. 2

Tab. 2

Erhitzung auf 75° C										Erh.a.115° C					
			theor. Werte*		ermittelte Werte				ermitt. Werte						
Char-ge	Zu-satz p.kg Brät	pH- Wert des Bräts	Ges-N in %	TCA-N in %	Ges-N in %	TCA-N in %	Ges-N in %	TCA-N in %	Roh- pro- tein in %	Ges-N in %	TCA-N in %	Abnahme d.Ges-N b.115°C in% des Ges-N b.75° C			
			Frischgew.	Frischgew.	Frischgew.	Frischgew.	Frischgew.	Frischgew.	Fr.- Gew.						
1	0	fleischig- würzig	6,3	1,51	0,16	1,51	0,16	1,51	0,16	10,6	9,4	1,35	0,17	10,9	-
2	1g A	fleischig- würzig	6,2	1,56	0,21	1,52	0,19	1,52	0,19	12,5	9,5	1,38	0,20	9,2	+++
3	3g A	bitterer Beigeschm.	6,3	1,64	0,29	1,57	0,23	1,57	0,23	14,6	9,8	1,42	0,20	9,6	+++
4	5g A	ungenieß- bar	6,3	1,74	0,39	1,68	0,29	1,68	0,29	17,2	10,5	1,53	0,23	8,9	+++
5	1g C	fleischig- würzig	6,2	1,52	0,17	1,52	0,19	1,52	0,19	12,5	9,5	1,45	0,19	4,6	-
6	3g C	besser als 5	6,3	1,53	0,18	1,54	0,19	1,54	0,19	12,3	9,6	1,40	0,20	9,1	-
7	5g C	deutl.bes- ser als 5	6,2	1,54	0,19	1,57	0,19	1,57	0,19	12,1	9,8	1,43	0,20	8,9	-
8	7g C	ungenieß- bar	6,3	1,55	0,20	1,59	0,21	1,59	0,21	13,2	9,9	1,45	0,21	8,8	-
9	2g A	leicht bitter	6,2	1,62	0,27	1,56	0,22	1,56	0,22	14,1	9,7	1,46	0,22	6,4	+++
10	4g A	bitterer Beigeschm.	6,3	1,72	0,37	1,67	0,29	1,67	0,29	17,3	10,4	1,56	0,23	6,6	+++
11	3g E	fleischig- würzig	6,3	1,53	0,16	1,52	0,16	1,52	0,16	10,6	9,5	1,43	0,16	5,9	-

Zeichenerklärung: - negativ; ++ stark positiv

* Erklärung siehe Text



3.3.1.5. Versuchsreihe III

Das Magerbrät der "Bierwurst" wurde mit Rindfleisch von der Schulter hergestellt. Es hatte einen Gesamt-N-Gehalt von 3,01 % und einen Rest-N-Gehalt von 0,29 %. Folgende Rezeptur wurde angewendet:

40,0 % Rindfleisch

20,0 % Schweinefleisch, durchwachsen

24,0 % Speck

16,0 % Eis

20,0 g Nitritpökelsalz pro kg Fleisch und Speck

1,0 g Natriumascorbat pro kg Brät

4,0 g Gewürz pro kg Brät

Verwendete Zusätze: A (Harnstoff)

B (Milcheiweiß-Hydrolysat)

C (pflanzliches Hydrolysat)

3.3.1.6. Ergebnisse

S. Tab.3 u. Abb.3

Die Fehlergrenze der Stickstoffbestimmung (Methode nach Kjeldahl) betrug $\pm 0,02$ % N.

Bei Zugabe von 1g A, 3g C und 3g B lagen die Veränderungen der Rohproteinwerte innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei Zusatz von 3g A, 5g C, 7g C, 2g A + 4g C und 7g C stieg der Rohproteingehalt vom Kontrollwert 12,1 % auf 12,6 % und bei Zugabe von 4g A + 5g C bis auf 12,8 % an.

Die Veränderungen des TCA-N-Gehaltes blieben bei Zusatz von 1g A, 3g C, 5g C und 3g B innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei 7g C, 3g A, 10g C und 2g A + 4g C betrug die absolute Zunahme bis 0,07 % und bei 5g A und 4g A + 5g C bis 0,15 %.

Der prozentuale Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt wurde durch 1g A, 3g C, 5g C, 7g C und 3g B nicht wesentlich erhöht. Durch Zusatz von 3g A, 10g C und 2g A + 4g C stieg der Kontrollwert 9,8 auf 13,1 % an und bei Verwendung von 4g A + 5g C und 5g A stieg dieser Wert auf 16,0 bzw. 16,2 % an.

Bei Erhitzung des Bräts auf 115° C konnte gegenüber der Brühtemperatur von 75° C eine Abnahme des Gesamt-N-Gehaltes zwischen 4,1 und 10,2 % (bezogen auf Frischgewicht) beobachtet werden, während die TCA-N-Werte relativ konstant blieben.

Der Harnstoffnachweis war bei den Chargen 2, 3, 4, 9 und 10 stark positiv.

Tab. 3

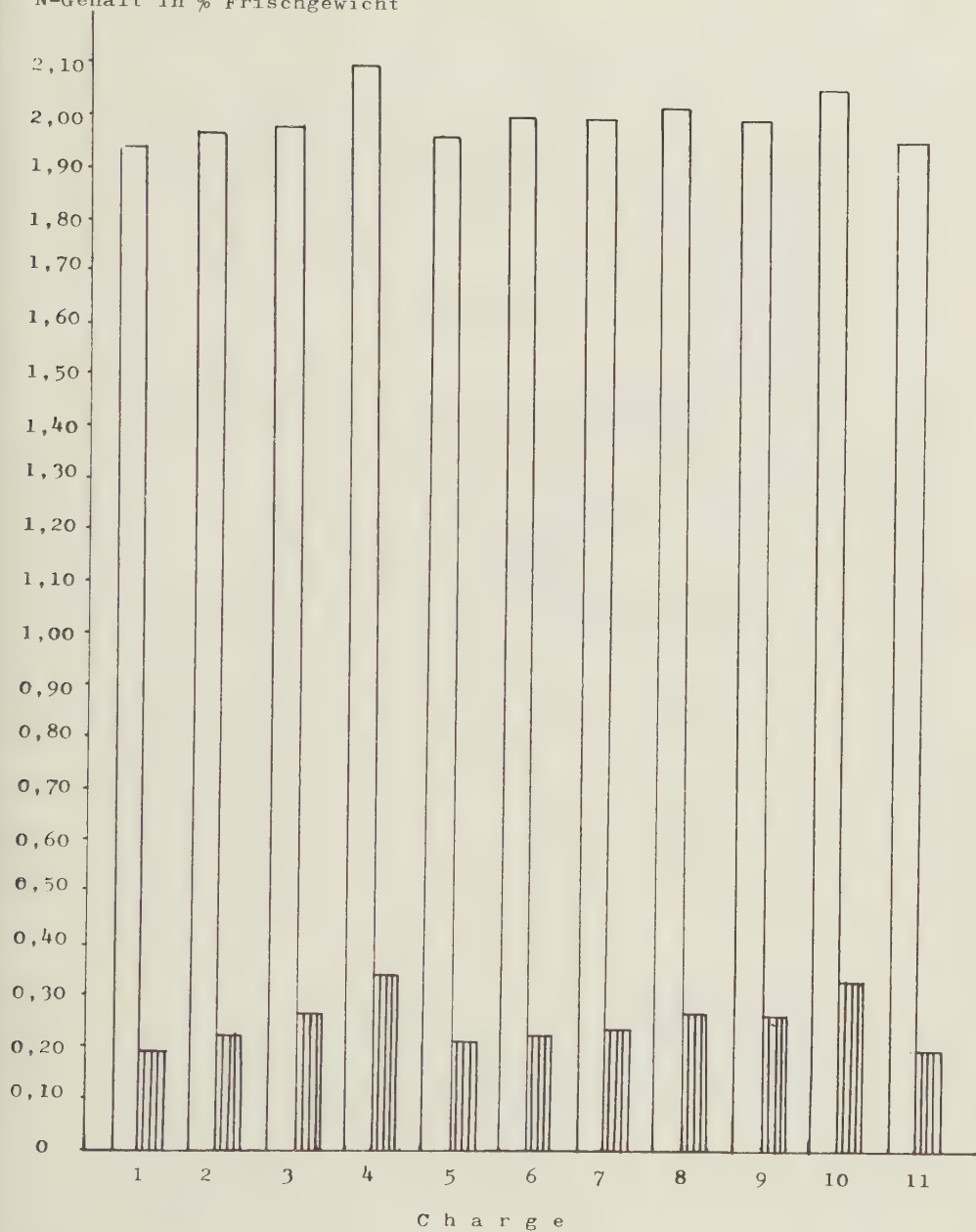
Tab. 3

			Erhitzung auf 75° C					Erh.a.115° C					
Char-ge	Zu-satz p.kg Brät	Geschmack	pH-Wert des Bräts	theor.Werte*				ermittelte Werte		ermittl. Werte			
				Ges-N in %	TCA-N in %	Ges-N in %	TCA-N des Ges-N	Ges-N in %	TCA-N Frischgew.				
				Frischgew.	Frischgew.	Frischgew.	Fr.-Gew.	Frischgew.	Frischgew.	Abnahme d.Ges-N b.115° C in % d. Ges-N b.75° C			
1	0	fleischig-würzig	6,2	1,94	0,19	1,94	0,19	9,8	12,1	1,86	0,19	4,1	-
2	1g A	fleischig-würzig	6,3	1,99	0,24	1,96	0,22	11,2	12,3	1,85	0,21	5,7	+++
3	3g A	bitterer Beigeschm.	6,3	2,07	0,32	1,98	0,26	13,1	12,4	1,79	0,22	9,6	+++
4	5g A	ungenießbar	6,3	2,17	0,42	2,10	0,34	16,2	13,1	1,94	0,24	7,6	+++
5	3g C	besser als 1	6,2	1,96	0,21	1,96	0,21	10,7	12,3	1,76	0,22	10,2	-
6	5g C	deutl.besser als 1	6,3	1,97	0,22	1,99	0,22	11,1	12,4	1,85	0,21	7,0	-
7	7g C	ungenießbar	6,2	1,98	0,23	1,99	0,24	12,0	12,4	1,84	0,23	7,5	-
8	10g C	ungenießbar	6,2	2,00	0,25	2,02	0,26	12,9	12,6	1,85	0,25	8,4	-
9	2g A leicht + 4g C bitter		6,3	2,06	0,29	2,00	0,26	13,0	12,5	1,87	0,25	6,5	+++
10	4g A bitterer + 5g C Beigeschm.		6,3	2,15	0,38	2,05	0,33	16,0	12,8	1,96	0,29	4,4	+++
11	3g B	fleischig-würzig	6,2	1,95	0,20	1,96	0,19	9,7	12,3	1,84	0,19	6,1	-

Zeichenerklärung: - negativ; ++ stark positiv

* Erklärung siehe Text

N-Gehalt in % Frischgewicht



Gesamt-N-Gehalt



TGA-N-Gehalt

3.3.1.7. Versuchsreihe IV

Für die Herstellung der "feinen Lyoner" wurde Rindfleisch verwendet, das einen Gesamt-N-Gehalt von 3,02 % und einen Rest-N-Gehalt von 0,33 % aufwies.

Rezeptur:

48,0 % Rindfleisch

28,0 % Speck

24,0 % Eis

20,0 g Nitritpökelsalz pro kg Fleisch und Speck

1,0 g Natriumascorbat pro kg Brät

4,0 g Gewürz pro kg Brät

Verwendete Zusätze: A (Harnstoff)

B (Milcheiweiß-Hydrolysat)

C (pflanzliches Hydrolysat)

E (Hefe-Hydrolysat)

3.3.1.8. Ergebnisse

S. Tab.4 u. Abb.4

Die Fehlergrenze der Stickstoffbestimmung betrug $\pm 0,02\%$ N.

Bei Zugaben von 1g A, 3g C und 3g E lagen die Veränderungen der Rohproteinwerte innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei Zusatz von 5g C, 7g C, 10g C, 2g A + 4g C und 3g A stieg der Rohproteingehalt vom Kontrollwert 10,7 % bis auf 11,2 % und bei Zugabe von 5g A bzw. 4g A + 5g C auf 11,6 % an.

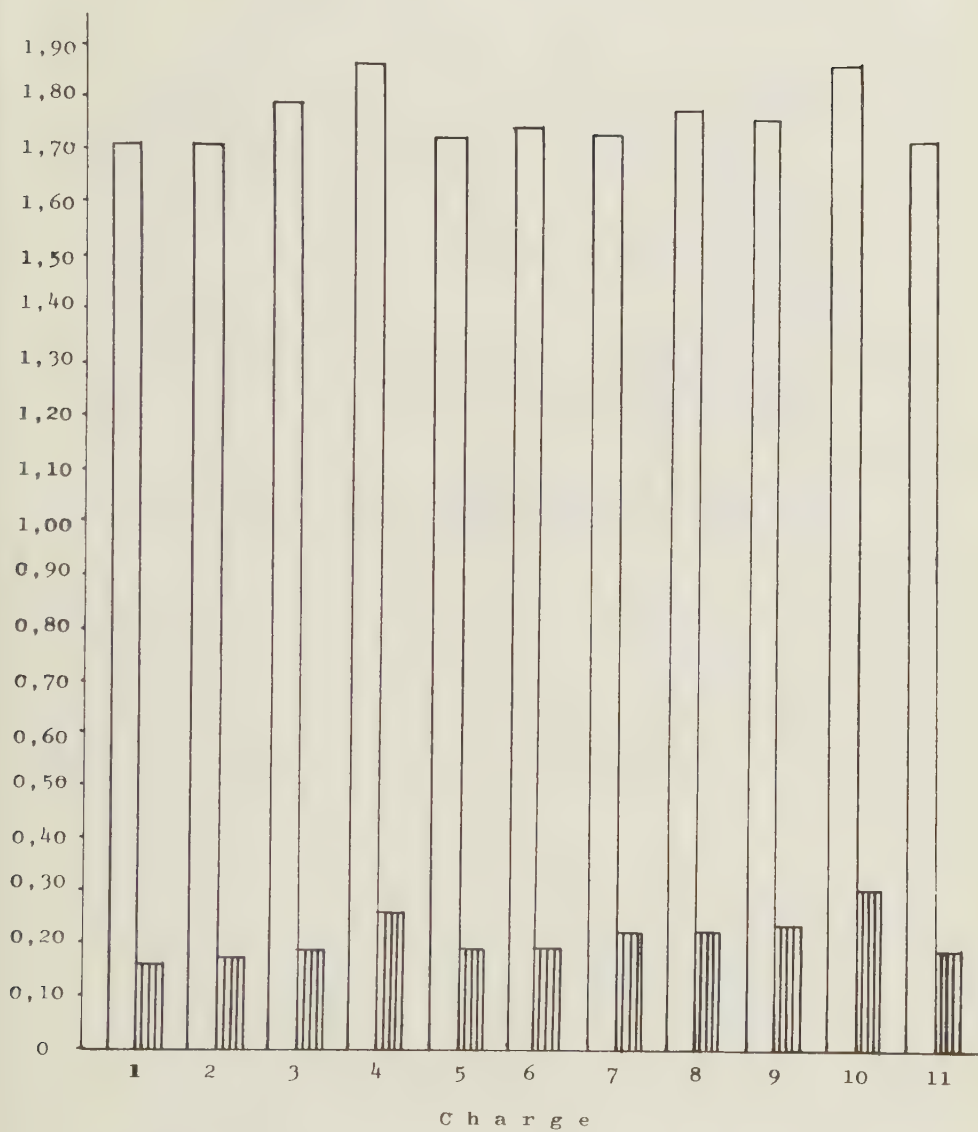
Die Veränderungen des TCA-N-Gehaltes blieben bei Zusatz von 1g A, 3g A, 3g C, 5g C und 3g E innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei Zugabe von 7g C, 10g C, 2g A + 4g C und 5g A wurde eine absolute Erhöhung bis zu 0,10 % und bei 4g A + 5g C bis 0,14 % festgestellt.

Der prozentuale Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt wurde durch 1g A, 3g A, 3g C, 5g C und 3g E nicht wesentlich erhöht. Bei Verwendung von 7g C, 10g C, 2g A + 4g C und 5g A stieg der Kontrollwert 9,4 % bis auf 14,0 % an. Bei Verwendung von 4g A + 5g C wurde eine Erhöhung dieses Wertes auf 16,1 % festgestellt.

Der Harnstoffnachweis war bei den Chargen 2,3,4,9 und 10 stark positiv.

Eine Erhitzung des Bräts auf 115⁰ C wurde in Versuch IV nicht vorgenommen.

N-Gehalt in % Frischgewicht



Gesamt-N-Gehalt



TCA-N-Gehalt

3.3.1.9. Versuchsreihe V

Zur Herstellung der "Fleischwurst einfach" wurde Rindfleisch von der Schulter verwendet. Es hatte einen Gesamt-N-Gehalt von 3,14 % und einen Rest-N-Gehalt von 0,29 %.

Rezeptur:

40,0 % Rindfleisch

35,0 % Speck

25,0 % Eis

20,0 g Nitritpökelsalz pro kg Fleisch und Speck

1,0 g Natriumascorbat pro kg Brät

4,0 g Gewürz pro kg Brät

Verwendete Zusätze: B (Milcheiweiß-Hydrolysat)

D (Hefe-Autolysat)

3.3.1.10. Ergebnisse

S. Tab.5 u. Abb.5

Die Fehlergrenze der Stickstoffbestimmung betrug $\pm 0,02 \%N$.

Bei Zugaben von 5g B, 10 g B und 5g D lagen die Veränderungen der Rohproteinwerte innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei Zusatz von 15 g B und 10 g D stieg der Rohproteingehalt vom Kontrollwert 10,1 % auf 10,6 % und bei Zugabe von 15g D und 10g D auf 10,8 % an.

Der TCA-N-Gehalt blieb bei Zusatz von 5g B innerhalb der angegebenen Fehlergrenze. Bei Zugabe von 10g B, 5g D und 15g B wurden bis 0,06 %, bei 10g D und 15g D bis 0,10 % und bei 20g D bis 0,13 % absolute Erhöhung des Kontrollwertes festgestellt.

Der prozentuale Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt wurde durch 5g B nur unwesentlich erhöht. Durch Zusatz von 10g B, 15g B und 5g D stieg der Kontrollwert 9,9 bis auf 12,9 % an. Bei Verwendung von 10g D und 15g D wurden Erhöhungen auf 14,1 % bzw. 15,1 % festgestellt und bei Zugabe von 20 g D stieg dieser Wert bis auf 16,8 % an.

Harnstoff konnte bei keiner Charge nachgewiesen werden.

Eine Erhitzung des Bräts auf 115° C wurde in Versuch V nicht vorgenommen.

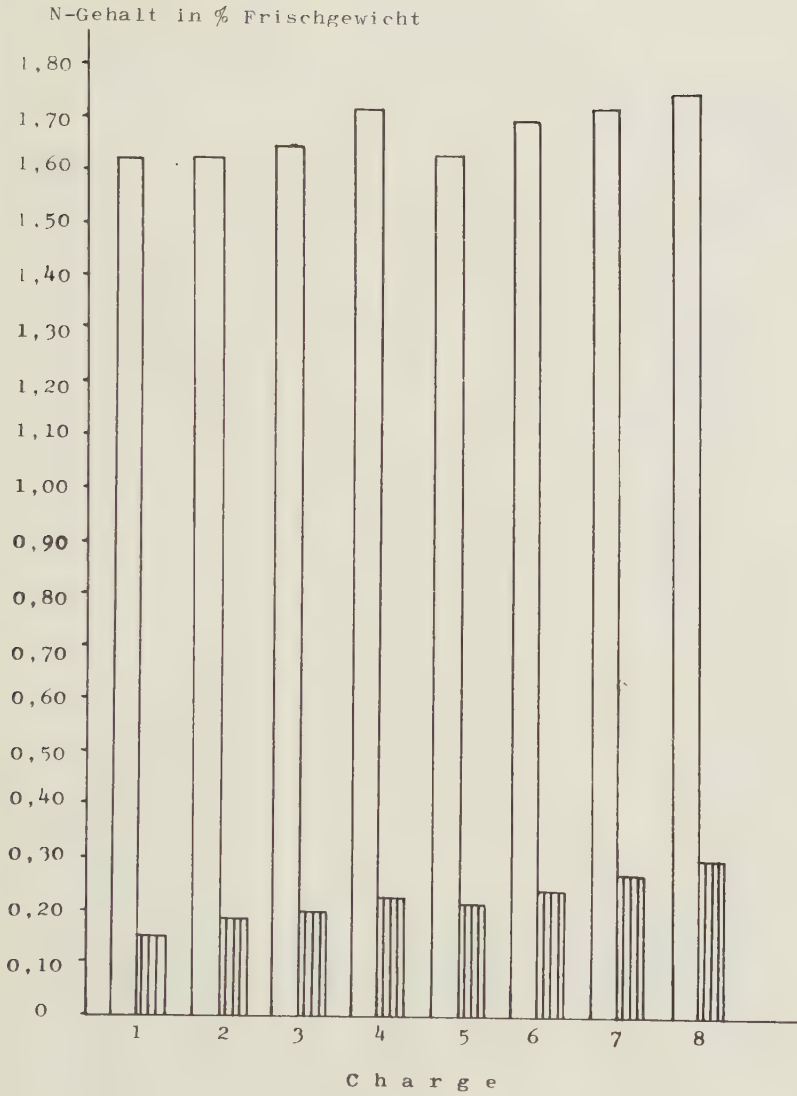
Tab. 5

			Erhitzung auf 75° C						Azostix	
			theor. Werte*		ermittelte Werte					
			Ges-N in %	TCA-N in %	Ges-N in %	TCA-N in %	TCA-N in % des Ges-N	Roh- pro- tein in %		
Char- ge	Zu- satz pro kg Brät	Geschmack	pH-Wert des Bräts	Frischgew.	Frischgew.	Frischgew.				
1	0	fleischig- würzig	6,2	1,62	0,16	1,62	0,16	9,9	10,1	-
2	5g B	besser als 1	6,3	1,64	0,18	1,63	0,18	11,0	10,2	-
3	10g B	Fremdge- schmack	6,3	1,65	0,19	1,64	0,20	12,2	10,3	-
4	15g B	ungenieß- bar	6,2	1,67	0,21	1,70	0,22	12,9	10,6	-
5	5g D	fleischig- würzig	6,3	1,65	0,19	1,64	0,21	12,8	10,3	-
6	10g D	etwas nach "Maggi"	6,3	1,68	0,22	1,70	0,24	14,1	10,6	-
7	15g D	ungenieß- bar	6,3	1,71	0,25	1,72	0,26	15,1	10,8	-
8	20g D	ungenieß- bar	6,3	1,74	0,28	1,73	0,29	16,8	10,8	-

Zeichenerklärung: - negativ

* Erklärung siehe Text

Abb. 5



Gesamt-N-Gehalt



TCA-N-Gehalt

3.3.2. Brühwürste aus dem Handel

Die Analysen von Brühwürsten aus dem Handel ergaben folgende Ergebnisse:

Tab. 6

Wurstart	pH-Wert	Ges-N in %	Roh- pro- tein in %	TCA-N in %	TCA-N in % des Ges-N	Azo- stix
Frischgewicht						
1. Gelbwurst 1	6,5	1,63	10,2	0,14	8,6	-
2. Gelbwurst 2	6,7	1,59	9,9	0,14	8,8	-
3. Gelbwurst 3	6,3	1,56	9,8	0,20	12,8	-
4. Gelbwurst 4	6,6	1,50	9,4	0,19	12,7	-
5. Gelbwurst 5	6,3	1,58	9,9	0,19	12,0	-
6. Gelbwurst 6	6,2	1,60	10,0	0,16	10,0	-
7. Gelbwurst 7	6,6	1,68	10,5	0,13	7,7	-
8. Gelbwurst 8	6,1	1,61	10,1	0,17	10,6	-
9. Gelbwurst 9	6,4	1,56	9,8	0,18	11,5	-
10. Gelbwurst 10	6,4	1,51	9,4	0,18	11,9	-
11. Gelbwurst 11	6,3	1,62	10,1	0,18	11,1	-
12. Lyoner 1	6,4	1,41	8,8	0,15	10,6	-
13. Lyoner 2	6,3	1,54	9,6	0,13	8,4	±
14. Lyoner 3	6,1	1,64	10,3	0,18	10,9	-
15. Lyoner 4	6,4	1,69	10,6	0,17	10,1	-
16. Lyoner 5	6,3	1,50	9,4	0,16	10,7	-
17. Lyoner 6	6,7	1,54	9,6	0,14	9,1	-
18. Lyoner 7	6,4	1,64	10,3	0,16	9,8	-
19. Mortadella 1	6,1	1,99	12,5	0,15	7,5	-
20. Mortadella 2	6,1	1,78	11,1	0,14	7,9	-
21. Mortadella 3	6,1	2,00	12,5	0,16	8,0	-
22. Mortadella 4	6,4	1,72	10,8	0,16	9,3	-
23. Mortadella 5	6,4	1,96	12,3	0,22	11,2	-
24. Mortadella 6	6,2	1,87	11,7	0,17	9,1	-
25. Mortadella 7	6,5	1,82	11,4	0,18	9,9	-
26. Mortadella 8	6,5	1,98	12,4	0,20	10,1	-

Zeichenerklärung: - negativ

± zweifelhaft bis schwach positiv

Fortsetzung der Tab. 6

Wurstart	pH-Wert	Ges-N in %	Roh- pro- tein in %	TCA-N in %	TCA-N in % des Ges-N	Azo- stix
Frischgewicht						
27. Schinkenwurst 1	6,4	2,05	12,8	0,23	11,2	-
28. Schinkenwurst 2	6,6	1,78	11,1	0,21	11,8	-
29. Schinkenwurst 3	6,4	1,93	12,1	0,23	11,9	-
30. Schinkenwurst 4	6,2	1,87	11,7	0,23	12,3	-
31. Schinkenwurst 5	6,6	2,11	13,2	0,20	9,5	-
32. Schinkenwurst 6	6,4	1,92	12,0	0,20	10,4	-
33. Schinkenwurst 7	6,3	2,03	12,7	0,19	9,4	-
34. Fleischwurst 1	6,4	1,72	10,8	0,15	8,7	-
35. Fleischwurst 2	6,5	1,92	12,0	0,17	8,9	-
36. Fleischwurst 3	6,7	1,90	11,9	0,22	11,6	±
37. Fleischwurst 4	6,6	1,82	11,4	0,21	11,5	-
38. Göttinger 1	6,2	2,15	13,4	0,18	8,4	±
39. Göttinger 2	6,5	1,92	12,0	0,21	10,9	±
40. Göttinger 3	6,3	2,08	13,0	0,23	11,1	-
41. Fleischkäse 1	6,7	2,06	12,9	0,19	9,2	-
42. Fleischkäse 2	6,5	1,73	10,8	0,18	10,4	-
43. Fleischkäse 3	6,3	1,99	12,4	0,19	9,5	-
44. Stadtwurst 1	6,1	1,72	10,8	0,16	9,3	-
45. Stadtwurst 2	6,2	1,82	11,4	0,20	10,9	-
46. Jagdwurst 1	6,1	1,40	8,8	0,15	10,7	±
47. Jagdwurst 2	6,1	2,14	13,4	0,21	9,8	-
48. Kalbfleischw. 1	6,5	1,79	11,2	0,19	10,6	-
49. Kalbfleischw. 2	6,3	1,84	11,5	0,14	7,6	-
50. Kalbfleischw. 3	6,2	1,90	11,9	0,16	8,4	±

Zeichenerklärung: - negativ

± zweifelhaft bis schwach positiv

3.3.2.1. Ergebnisse

S. Tab. 6

Die Rohproteinwerte der untersuchten Brühwürste aus dem Handel lagen im Bereich zwischen 8,8 % und 13,4 % (bezogen auf Frischgewicht).

Die TCA-N-Gehalte der Brühwürste aus dem Handel lagen zwischen 0,13 % und 0,23 % (bezogen auf Frischgewicht).

Für den prozentualen Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt wurden Werte von 7,7 % bis 12,8 % ermittelt. Der Mittelwert betrug 10,1 %.

Der Harnstoffnachweis war in den Brühwürsten Nr. 13, 36, 38, 39, 46 und 50 zweifelhaft bis schwach positiv.

3.3.3. Diskussion und Ergebnisse

Bei der Beurteilung von Fleischerzeugnissen nach dem Gesamteiweißgehalt beschränkte sich bisher der Nachweis von Verfälschungen auf überhöhte Bindegewebsgehalte oder unzulässige Fremdeiweißzusätze (38, 60, 63). In jüngster Zeit erscheinen vermehrt Präparate auf dem Markt, die zur Geschmacksverbesserung von Fleischerzeugnissen verwendet werden, durch ihren hohen Stickstoffgehalt jedoch geeignet sind, den Rohproteinwert zu erhöhen und damit bei der Berechnung des Gesamteiweißgehaltes zu hohe Werte ergeben. In der Regel handelt es sich dabei um Eiweiß-Hydrolysate bzw. -Autolysate, deren Gesamt-N-Gehalt sehr hohe Nichteiweiß-N-Anteile aufweist. Eine Verfälschung des Rohproteinwertes durch derartige Substanzen kann nur durch die Bestimmung der nicht fällbaren Stickstoffverbindungen erkannt werden. Da Trichloressigsäure unter den üblichen Eiweißfällungsmitteln die exakteste Trennung von Protein- und Nichtprotein-Stickstoffsubstanzen ermöglicht (20, 41), sollte der Nichteiweiß-N (Rest-N) als TCA-N bestimmt werden.

Über den TCA-N-Gehalt von Brühwürsten sind aus der Literatur keine Werte bekannt. Bei den Proben aus dem Handel lag der TCA-N-Gehalt zwischen 0,13 und 0,23 %. Die Kontrollchargen der Modellbrühwürste zeigten mit 0,14 bis 0,19 % TCA-N-Gehalt ähnliche Werte. Durch den Zusatz geringer, jedoch sich auf den Geschmack günstig auswirkender NPN-Substanzen, wurden bei Modellbrühwürsten TCA-N-Werte bis 0,22 % erreicht. Erzeugnisse mit einem TCA-N-Gehalt von 0,23 % und darüber wiesen jedoch deutliche Geschmacksängel auf. Die geschmacksbedingte Begrenzung der Zusatzmengen sollte jedoch nicht überbewertet werden, da sie sich durch geeignete Würzung bzw. geschmacksneutrale Zusätze sicherlich umgehen läßt. Nach den vorliegenden Untersuchungen sollte daher ein TCA-N-Gehalt bei Brühwürsten von über 0,25 % als Hinweis auf eine mögliche Verfälschung mit NPN-

haltigen Zusatzstoffen in Betracht gezogen werden.

Zuverlässiger für eine endgültige Beurteilung eines Verfälschungsverdacht ist jedoch der prozentuale Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt. Diese Verhältniszahl bleibt auch bei sehr hohem Fleischanteil in etwa gleich groß, während der absolute TCA-N-Gehalt bei Brühwürsten mit sehr hohem Fleischanteil zu einer falschen Beurteilung führen kann.

Da Fleisch im allgemeinen einen TCA-N-Anteil am Gesamt-N-Gehalt (A-Wert) von ca. 9 - 11 % aufweist (22, 71) und Speck bzw. Schwarten als weitere Bestandteile von Brühwürsten wegen ihres geringen Gesamt-N- bzw. TCA-N-Gehaltes (71, 72) den A-Wert nur unbedeutend beeinflussen, sind auch bei Fleischerzeugnissen dieser Art ähnliche Relationen anzunehmen. A-Werte von Brühwürsten sind bisher in der Literatur ebenfalls nicht beschrieben. Bei den Kontrollchargen betrug der prozentuale Anteil des TCA-N- am Gesamt-N-Gehalt 9,3 - 10,6 %, mit einem Mittelwert von 9,8 %. Bei den Proben aus dem Handel wurden A-Werte zwischen 7,7 und 12,8 % ermittelt. Der Mittelwert betrug hier 10,1 %. Durch NPN-haltige Zusätze konnte der A-Wert, ohne geschmackliche Abweichungen, bis auf höchstens 14,0 % angehoben werden. Aufgrund dieser Ergebnisse wird unter Berücksichtigung der NPN-Zunahme bei länger gelagertem Fleisch um ca. 20 % (78) und der beobachteten Abnahme des Gesamt-N-Gehaltes bei Hoherhitzung, für den TCA-N-Anteil am Gesamt-N-Gehalt ein Grenzwert von 15 % vorgeschlagen.

Ein Zusatz von Harnstoff konnte bei den Modellbrühwürsten in geschlossenen Behältnissen mit dem Azostix-Test ab 0,08 % eindeutig nachgewiesen werden. In den Kontrollchargen und den Proben ohne Harnstoffzusatz sowie bei Zusatz von Harnstoff zu Modellbrühwürsten bis 0,04 %, war der Harnstofftest negativ. Es darf daher angenommen werden, daß nur Harnstoff, nicht jedoch normale Wurstbestandteile eine positive Reaktion verursacht haben.

Um einen Farbumschlag des Azostix-Teststreifens durch ein zu hohes pH der Wurst ausschließen zu können, wurde zusätzlich der pH-Wert gemessen. Durch die verwendeten Zusätze (A, B, C, D und E) konnten keine Veränderungen der pH-Werte beobachtet werden.

Der Azostix-Test erscheint aufgrund der Ergebnisse als Vorprobe zur Feststellung von Harnstoff in Wurstwaren geeignet. Er soll jedoch exakte Analysen nicht ersetzen, aber einen Hinweis liefern, ob eine quantitative Bestimmung durchgeführt werden muß.

Die beobachtete Stickstoffabnahme bei Hoherhitzung auf 115°C von Brühwürsten in geschlossenen Behältnissen lag im Mittel bei ca. 8 %. Ein Entweichen von N-haltigen Substanzen aus den Behältnissen ist auszuschließen. Es wird vermutet, daß es bei der Hoherhitzung zu innermolekularen Umlagerungen von Stickstoff kommt, die bei der Kjeldahl-Methode der Bestimmung entgehen. Der in der Literatur beschriebene Stickstoffverlust (42, 122) kann nicht als Vergleich herangezogen werden, da er beim Erhitzen in nicht geschlossenen Behältnissen beobachtet wurde. Zur Abklärung dieser Beobachtung wären umfangreiche Untersuchungen erforderlich.

4. Zusammenfassung

- a) Die Literatur über Proteine und N-haltige Nichteiweißstoffe (NPN) im Muskelfleisch sowie deren analytische Erfassung und die Veränderungen während Lagerung und Erhitzung wurde zusammengestellt und besprochen. Außerdem wurde die Beurteilung von Fleischerzeugnissen nach dem Eiweißgehalt und dessen Verfälschungsmöglichkeit, insbesondere durch NPN-Substanzen, erörtert.
- b) Durch Zusatz von NPN-Substanzen zu Modellbrühwürsten wurden TCA-N-Erhöhen bis 0,38 %, bei Kontrollwerten von 0,14-0,19 %, beobachtet. Bei einem TCA-N-Gehalt von 0,23 % und darüber traten deutliche Geschmacksabweichungen auf.
- c) Nach Untersuchung von Modellbrühwürsten und Proben aus dem Handel werden für Brühwürste 0,25 % TCA-N und 15 % TCA-N-Anteil am Gesamt-N als Grenzwerte vorgeschlagen.
- d) Harnstoffzusätze zu Modellbrühwürsten in geschlossenen Behältnissen konnten mit dem beschriebenen enzymatischen Schnelltest ab 0,08 % nachgewiesen werden.

Summary

- a) The literature concerning proteins and non-protein nitrogen (NPN) in muscle as well as the analytical determination and alteration during storage and heating were reviewed and discussed. In addition the judgement of meat products for protein content and the possibility of their alteration, especially by NPN-substances, was discussed.
- b) By using NPN-substances to model Frankfurter-type sausages there were increases of TCA-N up to 0,38 %; in the controls it was 0,14 - 0,19 %. At a content of 0,23 % TCA-N and over there were distinct deviations in taste.
- c) According to the examination of model Frankfurter-type sausages and market samples 0,25 % TCA-N and 15 % TCA-N-share of total nitrogen are suggested as limit for Frankfurter-type sausages.
- d) Admixtures of urea to packaged model sausages could be proved by the pre-determined enzymatic test from 0,08 %.

5. Literaturverzeichnis

1. Bailey, K.:
Tropomyosin: a new asymmetric protein of the muscle
fibril.
Biochem. J. 43 (1948), 271;
2. Baranowski, T.:
Die Isolierung von kristallisierten Proteinen aus
Kaninchenmuskeln.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 260 (1959), 43;
3. Bartley, W., H.A. Krebs, and J.R.P. O'Brien:
Vitamin C requirement of human adults.
Med. Res. Council. Rep. Ser. Nr. 280 (1953);
4. Bate-Smith, E.C.:
Native and denaturated muscle proteins.
Proc. Roy. Soc. 124 (1937), 136;
5. Bate-Smith, E.C.:
Carnosine and Ansernine in meat.
Food Preserv. 18 (1958), 42;
6. Belitz, H.D.:
Aminosäuren, Peptide, Proteine und andere Stickstoff-
verbindungen.
In: Handbuch der Lebensmittelchemie, Springer-Verlag
Berlin-Heidelberg-New York, 1965;
7. Bertling, L.:
Die Zusammensetzung von Fleischwurst mittlerer Quali-
tät.
Fleischwirtschaft 48 (1968), 1035;
8. Bertling, L.:
Über das Fett/Eiweißverhältnis bei Rohwürsten.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 581;
9. Bertling, L.:
Beurteilung und Wertbestimmung von Fleischerzeugnissen.
Fleischwirtschaft 51 (1971), 487;

10. Beythien, A. und W. Diemair:
Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker.
Verlag Theodor Steinkopff, Dresden-Leipzig 1963;
11. Bocksch, W.:
Isoliertes Sojaeiweiß, ein möglicher Hilfsstoff
für lang zu lagernde Brühwurstkonserven.
Fleischwirtschaft 45 (1965), 779;
12. Brüggemann, J., K. Drepper, B. Franke, L. Kotter,
O. Prändl und B. Rolle:
Ernährungsphysiologische Bewertung des Kollagens.
Fleischwirtschaft 16 (1964), 20;
13. Carpenter, J.A., R.L. Saffle, and L.D. Kamsta:
Tenderization of beef by pre-rigor infusion of a
chelating agent.
Food Techn. 15 (1961), 197;
14. Dahl, O.:
Proteolytische Vorgänge während der Reifung von Fleisch.
Die Nahrung 6 (1962), 492;
15. Dahl, O.:
Zur Analytik der Eiweißqualität von Fleischwaren.
Fleischwirtschaft 48 (1968), 444;
16. Davey, C.L., and K.V.J. Gilbert:
Studies in meat tenderness; Proteolysis in aging
of beef.
J. Food Sci. 31 (1966), 135;
17. Deckenbrock, W.:
Beitrag zur chemischen Zusammensetzung von Brühwürsten.
Dt. Lebensmittel-Rdsch. 58 (1962), 193;
18. Diller, H. und R. Dittmeyer:
Zur Herstellung und Analytik von Hefeextrakten und
-hydrolysaten.
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 111 (1960), 214;

19. Diller, H. und R. Dittmeyer:
Hefeextrakte, ihre Herstellung, Untersuchung und Beurteilung.
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 83 (1942), 211;
20. Drosdow, N.S.:
Praktischer Leitfaden durch die Biochemie des Fleisches.
Akademie-Verlag, Berlin 1954, S. 139 ff;
21. Dvorak, Z.:
Csl. Biol. 5 (1956), 236;
zit. nach: R.H. Locker (78);
22. Fautz, J.:
Untersuchungen über Veränderungen einiger wasserlöslicher aromabildender Verbindungen während der Kochschinkenherstellung.
Vet. med. Diss., München 1967;
23. Field, R.A., M.L. Riley, and Y.O. Chang:
Free amino acid changes in different aged bovine muscles and their relationship to shear values.
J. Food Sci. 36 (1971), 611;
24. Finklaar, A.P.:
Fremdstoffe.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 32;
25. Flaschenträger, B. und E. Lehnartz:
Physiologische Chemie.
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954,
Band II/2a, S. 570;
26. Freimuth, U. und W. Krause:
Nachweis von Fremdproteinen in Fleischerzeugnissen.
Die Nahrung 14 (1970), 13;
27. Gardner, G.A., and D.J. Stewart:
Changes in the free amino and other nitrogen compounds in stored beef muscle.
J. Sci. Food Agric. 17 (1966), 491;

28. Garkawi, P.G.:

Über die Teilnahme des Carnitins an einigen biochemischen Prozessen und dessen Gehalt in den Muskeln verschiedener Tiere.

Biochemie 18 (1953), 302;

zit. nach: R. Grau (39);

29. Geiger, E.J.:

Nährwert von Rindfleisch.

Die Nahrung 34 (1947), 97;

30. Ginger, I.D., J.P. Wachter, D.M. Doty, and B.S.

Schweigert: Effect of aging and cooking on the distribution of certain amino acids and nitrogen in beef muscle.

Food Res. 19 (1954), 410;

31. Goll, D.E., D.W. Henderson, and E.A. Kline:

Postmortem changes in physical and chemical properties of bovine muscle.

J. Food Sci. 29 (1964), 590;

32. Gontzea, J., and P. Sutzescen:

Natural antinutritive substances in foodstuffs.

S. Karger-Verlag, Basel und New York 1968;

33. Grau, R. und A. Böhm:

Über freie Aminosäuren in frischem und gepökeltem Fleisch.

Fleischwirtschaft 10 (1958), 70;

34. Grau, R. und A. Böhm:

Über Nicht-Protein-Aminosäuren in frischem und gepökeltem Fleisch.

Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 108 (1958), 137;

35. Grau, R. und A. Frieß:

Vergleich von Nicht-Protein-Aminosäuren mit Protein-Aminosäuren in Brühwürsten ohne und mit Zusatz von aufgeschlossenem Milcheiweiß.

Fleischwirtschaft 15 (1963), 28;

36. Grau, R.:
Eigenschaften des Fleisches.
In: J. Schormüller (Hrsg.):
Handbuch der Lebensmittelchemie. Band III/2.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1968, S.998 ff;
37. Grau, R.:
Fleisch und Fleischwaren.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1969;
38. Grau, R.:
Problematik der Grenzwerte.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1171;
39. Günther, H.:
Bestimmung von Fremdeiweiß in Wurstwaren.
Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 97;
40. Guggenheim, M.:
Die biogenen Amine.
S. Karger-Verlag, Basel-New York 1951;
41. Hamilton, P.B., and D. van Slyke:
Influence of different protein precipitants.
J. biol. Chem. 150 (1943), 231;
42. Hamm, R.:
Die Wirkung der Zubereitung auf Zusammensetzung und
Nährwert des Fleisches.
Fleischwirtschaft 4 (1952), 247;
43. Hamm, R.:
Adenosintriphosphorsäure und ihre Bedeutung für die
Fleischqualität.
Fleischwirtschaft 2 (1957), 692;
44. Hamm, R.:
Adenosintriphosphorsäure und ihre Bedeutung für die
Fleischqualität.
Fleischwirtschaft 10 (1958), 80;

45. Hamm, R.:
Die Bedeutung der Chemie für Fleischwissenschaft
und Fleischwirtschaft.
Fleischwirtschaft 50, (1970), 627;
46. Harrison, D.L., B.Lowe, B.R. McClurg, and P.S. Shearer.
Physical, organoleptic, and histological changes in
three grades of beef during aging.
Food Techn. 3 (1949), 284;
47. Herold, G. und K.K. Harigel:
Zusammensetzung einiger Fleischerzeugnisse.
Fleischwirtschaft 16 (1964), 767;
48. Hiller, A., and D.D. van Slyke:
A study of certain protein precipitants.
J. biol Chem. 53 (1922), 253;
49. Hinsberg, K. und K. Lang:
Medizinische Chemie.
Verlag Urban und Schwarzenberg, München-Berlin 1951;
50. Hofmann, K. und R. Hamm:
Einfluß der Erhitzung auf Struktur und Zusammen-
setzung von Muskeleiweiß.
Fleischwirtschaft 49 (1969), 1180;
51. Hopper, T.H.:
Amino acids composition of foodstuffs.
Academic Press, New York 1958;
52. Hunter, A.:
Creatin and Creatinine.
Verlag Longmans, Green and Co. Ltd., London 1928;
53. Jaenicke, L.:
Pyrimidine und Purine.
In: Hoppe-Seyler/Thierfelder:
Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen
Analyse. Bausteine des Tierkörpers, Band II/1.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955, S.1217;

54. Jakube, H.D. und H. Jeschkeit:
Aminosäuren, Peptide, Proteine.
Akademie-Verlag, Berlin 1969;
55. Karlson, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970;
56. Kleiber, M.:
Der Energiehaushalt von Mensch und Haustier.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1967;
57. Klein, W. und H. Weiss:
Zur biologischen Wertigkeit von Sojaprotein.
Fleischwirtschaft 46 (1966), 392;
58. Kofranyi, E. und F. Jekat:
Zur Bestimmung der biologischen Wertigkeit von
Nahrungsproteinen.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 350 (1969), 1405;
59. Kotter, L. und H. Lehmann:
Gewichtsverlust bei Fleischeinlagen von Suppenkonserven.
Fleischwirtschaft 14 (1962), 871;
60. Kotter, L.:
Zum Eiweißgehalt von Wurstwaren als wesentliches
Kriterium für die Gütebeurteilung.
Dt. Lebensmittel-Rdsch. 2 (1963), 251;
61. Kotter, L., A. Palitzsch und Ch. Herrmann:
Technologische Bedeutung von Fremdeiweiß bei der
Fleischwarenverarbeitung.
Arch. Lebensmittelhyg. 19 (1968), 261;
62. Kotter, L., A. Palitzsch und A. Fischer:
Weitere Studien über die Vorgänge bei der Herstellung
von "Brühwurst" und die Wirkung verschiedener Hilfs-
stoffe.
Fleischwirtschaft 49 (1969), 1623;

63. Kotter, L., G. Krauß und G. Pfeiffer:
Der Fleischanteil als entscheidendes Kriterium für
die Beurteilung von Fleischerzeugnissen.
Fleischwirtschaft 49 (1969), 1465;
64. Kotter, L.:
Zur Wertbestimmung von Fleischerzeugnissen.
Arch. Lebensmittelhyg. 21 (1970), 271;
65. Kotter, L.:
Zur Erarbeitung von Leitsätzen für Fleisch und
Fleischerzeugnisse im Deutschen Lebensmittelbuch.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1481;
66. Kotter, L., G. Krauß, H. Schmidt und H. Schulze:
Schonkost und Diätfleischwaren aus lebensmittelrecht-
licher Sicht.
Fleischwirtschaft 51 (1971), 1061;
67. Kotter, L.:
pers. Mitt.
68. Kutscher, W. und D. Langnau:
Über die biologische Wertigkeit von Soja-Eiweiß und
aufgeschlossenem Milcheiweiß.
Fleischwirtschaft 45 (1965), 1432;
69. Lang, K.:
Biochemie der Ernährung.
Verlag Dietrich Steinkopff, Darmstadt 1970;
70. Lawrie, R.A.:
Fleischkunde.
BLV Verlagsanstalt, München-Basel-Wien 1970;
71. Lindner, A.F. und A. Patschky:
Über den Leimstickstoffgehalt in Fleisch, Fleisch-
waren und Wurstwaren.
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 90 (1950), 345;

72. Lindner, A.F. und W. Stadelmann:
Der Eiweißgehalt von Fleisch- und Wurstwaren als
rechtliche Grundlage ihrer Beurteilung.
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 115 (1961), 389;
73. Linke, H. und W. Arneth:
Der Fett- und Eiweißgehalt in Schlachttierkörpern
von Schwein und Rind.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 920;
74. Locker, R.H.:
Proteolysis in the storage of beef.
J. Sci. Food Agric. 11 (1960), 520;
75. Loewit, K.:
Über die ernährungsphysiologische Bedeutung des
Bindegewebes.
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 143 (1970), 5;
76. Lyman, C.M.:
Proteins.
Academic Press, New York 1958;
77. Ma, R.M., M.B. Matlack, and R.L. Husier:
A study of the free amino acids in bovine muscle.
J. Food Sci. 26 (1961), 485;
78. Macy, R.L., H.D. Naumann, and M.E. Bailey:
Qualitative study of certain amino acids, carbohy-
drates, non amino acid nitrogen compounds, and
phosphoric acid esters of beef, pork and lamb.
J. Food Sci. 29 (1964), 136;
79. Martin, A.J.P.:
Analysis of amino acids.
Advanc. Protein Chem. 2 (1945), 21;
80. McIntosh, E.N.:
Post-mortem changes in protein extractability in
beef, pork, and chicken muscle.
J. Food Sci. 32 (1967), 208;

81. Merck, E.:
Klinisches Labor.
E. Merck-Verlag, Darmstadt 1970, S. 214 ff;
82. Meyer, K.H. und H.H. Weber:
Das kolloidale Verhalten der Muskeleiweißkörper.
Biochem. Z. 266 (1933), 137;
83. Morosina, N.L.:
Die Veränderung des Gehaltes an freien Aminosäuren
im Fleischbrät während der Lagerung.
Fleischwirtschaft 48 (1968), 209;
84. Motoc, D. und C. Baum:
Biochemische Veränderungen bei der Lagerung von Rind-
und Schweinefleisch.
Fleischwirtschaft 48 (1968), 1045;
85. Müller, H.:
Über eine quantitative Bestimmung von Kreatinin in
Lebensmitteln.
Dt. Lebensmittel Rdsch. 59 (1963), 356;
86. Niewiarowicz, A.:
Occurence and changes of some amines in stored fresh
meat as well as in meat preserved by irradiation.
9. Kongr. Eur. Fleischforsch., Budapest 1963;
zit. nach: Grau (39);
87. Parrish, F.G., D.E. Goll, W.J. Newcomb, B.O. Lumen,
H.M. Chaudry, and E.A. Kline:
Molecular properties of post-mortem muscle. Changes in
nonprotein nitrogen and free amino acids of bovine muscle.
J. Food Sci. 34 (1969), 196;
88. Partmann, W.:
Zur Frage der künstlichen Fleischreifung mit papain-
haltigen Präparaten.
Z. Lebensm.-Unters. u. Forsch. 102 (1955), 321;

89. Penny, J.F.:
Effect of aging on the properties of myofibrils
of rabbit muscle.
J. Sci. Food Agric. 19 (1968), 518;
90. Prändl, O.:
Der Gehalt an Muskeleiweiß als Grundlage für die
Beurteilung von Wurstwaren.
Arch. Lebensmittelhyg. 14 (1963), 69;
91. Prändl, O.:
Erfahrungen mit dem österreichischen Lebensmittel-
buch. Gedanken über die Neugestaltung der Richt-
linien für Wurstwaren.
Arch. Lebensmittelhyg. 16 (1965), 7;
92. Pichotka, J.:
Der Stoffwechsel der Organismen.
In: W.D. Keidel:
Lehrbuch der Physiologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1970;
93. Rapoport, S.M.:
Medizinische Biochemie.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1965;
94. Roth, H. und F. Zinneke:
Quantitative organische Elementaranalyse.
In: Houben-Weyl:
Methoden der organischen Chemie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1953 Band 2, S.238 ff;
95. Römpf, H.:
Chemie Lexikon.
Franck'sche Verlagshandlung, Stuttgart 1962, Band II,
S. 2074 ff;

96. Rudischer, S.:
Ermittlung des effektiven Eiweißgehaltes von
Fleisch und Fleischprodukten.
Fleischwirtschaft 48 (1968), 209;
97. Schiller, K.:
Suppen, Soßen, Würzen und Brüherzeugnisse.
Wissenschaftliche Verlagsges., Stuttgart 1950, S.99 ff;
98. Schmidhofer, Th.:
Zur Qualitätsnormierung bei Fleischwaren.
Arch. Lebensmittelhyg. 16 (1965), 233;
99. Schormüller, J.:
Der Gehalt an gesamtem, gebundenem und freiem
Tryptophan in Lebensmitteln.
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 20 (1950), 337;
100. Schormüller, J. und G. Adler:
Die Stickstoffbilanz des Fleisches bei natürlicher
und künstlicher Reifung.
Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 109 (1959), 13;
101. Schormüller, J.:
Handbuch der Lebensmittelchemie.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1968,
Band III/2, S. 962 ff;
102. Schramm, G. und H.H. Weber:
Über monodisperse Myosinlösungen.
Kolloid. Z. 100 (1942), 242;
103. Schuphan, W.:
Ern. u. Verpfl. 8 (1943), 4;
zit. nach: J. Schormüller (102);
104. Sharp, G.J.:
Aseptic autolysis in rabbit and bovine muscle
during storage at 37° C.
J. Sci. Food Agric. 14 (1963), 468;

105. Smith, A.K., J.H. Rackis, P. Isnardi, J.L. Dartter
und O.K. Krober:
Nitrogen solubility index, isolated protein yield
and whey nitrogen content of several soybean.
Cereal Chem. 23 (1946), 288;
106. Smith, A.K.:
Grundlagen des Stickstoff-Protein-Umrechnungskoeffi-
zienten für Soja-Protein bezogen auf den Nährwert.
Fleischwirtschaft 46 (1966), 1106;
107. Souci, S.W. und H. Bosch:
Lebensmitteltabellen für die Nährwertberechnung.
Wissenschaftl. Verlagsges., Stuttgart 1967, S. 127 ff;
108. Stauff, J.:
Denaturierung der Proteine.
Angew. Chemie 68 (1956), 185;
109. Stetter, H.:
Enzymatische Analyse.
Chemie-Verlag, Weinheim 1951, S. 293 ff;
110. Stöver, R. und H.H. Weber:
Das kolloidale Verhalten der Muskeleiweißkörper.
Biochem. Z. 259 (1933), 269;
111. Straub, B.F.:
Biochemie.
Verlag der ungarischen Akademie der Wissenschaften,
Budapest 1960, S. 538 ff;
112. Sulser, H., P. Schenk und W. Büchi:
Quantitative Bestimmung verschiedener Inhaltsstoffe
in Fleischextrakten des Handels.
Mitt. Lebensmittel-Unters. u. Hyg. 58 (1967), 157;
113. Täufel, K.:
Biogene Amine in Lebensmitteln und ihre Auswirkung
bei der Ernährung.
Die Nahrung 14 (1970), 229;

114. Tsao, T.C., and K. Bailey:
The extraction, purification and some chemical
properties of actin.
Biochem. Biophys. Acta 11 (1953), 102;
115. Turki, P.R., and A.D. Campbell:
Relation of phospholipids to other tissue compounds
in two beef muscles.
J. Food Sci. 32 (1967), 152;
116. Unger, F.:
Studien über Kochverluste von zerkleinertem Fleisch.
Vet. med. Diss., München 1966;
117. Vognarova, J. und Z. Dvorak:
Qualität und Nährwert von Rind- und Schweinefleisch.
Fleischwirtschaft 50 (1970), 197;
118. Weber, H.H.:
Die Muskeleiweißkörper und der Feinbau des Skelett-
muskels.
Ergebn. Physiol. 36 (1934), 109;
119. Weber, H.H.:
Muskelproteine.
Biochem. Biophys. Acta 8 (1950), 12;
120. Weinberg, B., and D. Rose:
Changes in protein extractability during post-rigor
tenderization of chicken breast muscle.
Food Techn. 14 (1960), 376;
121. Wierbicke, E., and L.E. Kunkle:
The relation of tenderness to protein alteration
during post mortem aging.
Food Techn. 8 (1954), 506;
122. Ziegelmayr, W.:
Unsere Lebensmittel und ihre Veränderungen.
Verlag Th. Steinkopff, Dresden und Leipzig 1940;

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof.
Dr.Dr.h.c. L. K o t t e r für die Über-
lassung des Themas herzlich danken.

Mein Dank gilt weiter allen Institutsan-
gehörigen, die meine Arbeit gefördert
haben, insbesondere Herrn Dr. A. F i -
s c h e r und Herrn Dr. H. S c h m i d t
für die kritische Durchsicht des Manu-
skriptes und Herrn Dr. A. P a l i t z s c h
für seine Anregungen.

Nicht zuletzt möchte ich Fräulein Doris
G e r b e r und Herrn W e n d l i n g
für die Unterstützung bei der Durchführung
der Versuche meinen Dank aussprechen.

L e b e n s l a u f

Am 8. September 1941 wurde ich als Sohn des Landwirts Michael Schneider und dessen Ehefrau Rosa, geb. Rottmar, in Matzenweiler Krs. Tettwang geboren.

Nach 5 Jahren Volksschule besuchte ich das Gymnasium in Wangen im Allgäu, wo ich 1962 das Abitur ablegte.

Von 1962 bis 1964 leistete ich meinen Wehrdienst.

Danach studierte ich Veterinärmedizin in Berlin, Wien und München. Ich schloß im Dezember 1968 mit dem Staatsexamen ab und erhielt im März 1969 die Festallung als Tierarzt.

Seit dem Sommersemester 1969 studiere ich an der Universität München Medizin.

